

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. G. A. Martini

Untersuchungen zur Calciumsekretion des Pankreas

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von
Christian Steffen
aus Marburg

Marburg/Lahn 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553805_0065

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. G. A. Martini

Untersuchungen zur Calciumsekretion des Pankreas

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn



vorgelegt von
Christian Steffen
aus Marburg

Marburg/Lahn 1973



Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 21.8.1973

Bekan: Prof. Dr. H. Cepen

Referent: Prof. Dr. H. Goebell

Correferent: Prof. Dr. Ch. Bode

1. Einleitung und Problemstellung

2. Methodik

2.1. Gewinnung des Pankreassekretes

2.1.1. Thomasfistel des Duodenums; Operationsverfahren

2.1.2. Thomaskanüle mit Adapter

2.1.3. Duodenalsonde nach Lagerlöf

2.1.4. Aufbewahrung und Haltbarkeit des Pankreassaftes

2.2. Bestimmungsmethoden

2.2.1. Protein

2.2.1.1. Trypsin beim Hund

2.2.1.2. Trypsin beim Menschen

2.2.2.1. Chymotrypsin beim Hund

2.2.2.2. Chymotrypsin beim Menschen

2.2.4. Lipase

2.2.5. Calcium

2.2.6. Kalium und Natrium

2.2.7. Bikarbonat

2.3. Bezugsquellennachweis

2.4. Statistische Auswertung

3. Ergebnisse

3.1. Einfluß von Sekretin auf die Pankreassekretion des Hundes

3.1.1. Maximale sekretorische Kapazität unter Sekretin-Stimulation

3.1.2. Verhältnis der Calcium- und Proteinkonzentration unter Sekretin-Stimulierung

3.2. Einfluß von Pankreozymin auf die Pankreassekretion des Hundes

3.2.1. Ausscheidung von Flüssigkeit, Protein und Calcium

3.2.2. Verhältnis der Calcium- und Proteinkonzentrationen

3.2.3. Kinetik der Pankreozyminwirkung auf das Pankreas des Hundes

3.3. Einfluß der Barbiturat-Narkose auf die Sekretion von Calcium und Protein im Pankreassaft des Hundes

3.4. Einfluß von Glukagon auf die Sekretin-stimulierte Pankreassekretion des Menschen

3.4.1. Einfluß von Glukagon auf die Flüssigkeitssekretion

3.4.2. Einfluß von Glukagon auf die Bikarbonatsekretion

3.4.3. Einfluß von Glukagon auf die Enzymsekretion

3.4.4. Einfluß von Glukagon auf die Elektrolytsekretion

3.5. Einfluß von Glukagon auf eine nachfolgende Stimulation mit Pankreozymin

3.6. Einfluß von Glukagon auf eine kombinierte Stimulation mit Sekretin und Pankreozymin

3.7. Zusammenfassung der Ergebnisse

4. Diskussion

4.1. Die Calciumkonzentration im Pankreassaft

4.2. Formen des Calciums im Duodenalsaft

4.3. Die Eiweißbindung von Calcium

4.4. Die Bedeutung von Calcium für die Pankreassekretion

4.5. Cyklisches AMP und Pankreassekretion

4.6. Die Magnesiumkonzentration im Duodenalsaft

5. Tabellen

6. Literaturverzeichnis

7. Zusammenfassung

8. Lebenslauf

Einleitung und Problemstellung

1957 beschrieben Cope et al. das überdurchschnittlich hohe Zusammentreffen von Hyperparathyreoidismus (HPT) und Pankreatitis. Dies warf die Frage nach einem Zusammenhang dieser Erkrankungen auf. Die durch den HPT hervorgerufene Hypercalcämie hält Seifert (1965) für den entscheidenden Faktor bei der Entstehung dieser Form der Pankreatitis, da sie zu Kalksteinbildungen in den Pankreasgängen führen könne und Verkalkungen (parenchymatös wie kanalikulär) in etwa 50 % dieser Fälle beobachtet wurden. Er konnte jedoch mit Dosen von Dihydrotachysterin, die zu einer Nephrocalcinose führten, eine Pankreatitis nur nach zusätzlicher Schädigung durch intraperitoneale Injektion von Hühnereiweiß oder eines Eisenkomplexsalzes hervorrufen. Die Erhöhung des Serumcalciums allein führte noch nicht zur Pankreatitis.

Eine andere Auffassung vertreten Paloyan et al. (1967). Sie halten es für möglich, daß die Erkrankung primär das Pankreas betrifft und daß die Ursache des HPT und damit der Hypercalcämie eine Stimulation der Parathyreoidea durch Hypersekretion von Glukagon ist. Sie konnten zeigen, daß chronische Glukagonapplikation beim Kaninchen eine Hyperplasie der Parathyreoidea verursacht.

Die Schwierigkeit der Interpretation dieser Befunde liegt in der ubiquitären Anwesenheit und den vielfältigen biologischen Wirkungen des Calciums im Organismus.

So wurde Calcium als Cofaktor der Amylase erkannt (Stein et al. 1963), seine Bedeutung bei der Aktivierung von Trypsinogen (Mc Donald und Kunitz 1941) und bei der Stabilisierung von Trypsin (Sipos und Merkel 1970) wurden beschrieben.

Diese auf das Pankreas beschränkten Beispiele von Enzymaktivierungen finden Parallelen an vielen anderen Enzymsystemen. Neben diesen Befunden auf molekularer Ebene stehen Untersuchungen zellulärer Mechanismen.

Es konnte gezeigt werden, daß bei den Amylase-produzierenden Speicheldrüsen Pankreas (Jamieson und Palade 1968) und Parotis (Amsterdam et al. 1969) die Proteinsekretion gleichermaßen durch Verschmelzung der Zymogengranula mit dem Lumen

des Gangsystems zustande kommt, ein Vorgang, bei dem Calcium benötigt wird (Douglas und Poisner 1962).

Schramm (1971) konnte zeigen, daß der größte Teil des sezernierten Calciums an das Protein der Zymogengranula gebunden ist.

Die Acetylcholin-stimulierte Sekretion der Glandula submandibularis ist an die Anwesenheit von Calcium gebunden (Douglas und Poisner 1962).

Calcium ist ein wesentlicher Faktor in dem von Sutherland et al. (1965) entwickelten Modell, daß Hormonwirkungen über einen "second messenger" vermittelt werden, der das durch gewebsspezifische Adenylcyclasen aus Adenosintriphosphat gebildete cyclische Adenosin-3', 5'-monophosphat (c-AMP) darstellt.

Es konnten verschiedene Zusammenhänge zwischen Calcium und Pankreassekretion festgestellt werden, die ebenfalls die Bedeutung des Calciums für sekretorische Vorgänge unterstreichen. So stimuliert eine akute Hypercalcämie beim Menschen die Enzymsekretion (Goebell et al. 1972), während eine Hypocalcämie sie senkt (Hotz et al. 1972). Da Glukagon ebenfalls einen hypocalcämischen Effekt hat (Paloyan et al. 1967) und eine Hemmung der Enzymsekretion durch Dyck et al. (1969) demonstriert wurde, stellt sich die Frage, ob hier der Glukagoneffekt über eine Erniedrigung des Serumcalciums vermittelt wird. Die Beantwortung dieser Frage erscheint um so wichtiger, als bereits versucht wurde, Glukagon zur Therapie der Pankreatitis einzusetzen (Knight et al. 1971).

Untersuchungen am Mensch bieten die Schwierigkeit, daß reiner Pankreassaft kaum zu gewinnen ist. Gleichzeitig macht die Vielfalt der Einflüsse auf die intestinale Sekretion mit entsprechenden Schwankungen von Sekretionsvolumen und -qualität eine Untersuchung unter "normalen" Bedingungen nicht möglich.

Die wesentlichen Kontrollmechanismen der Pankreassekretion sollen hier kurz skizziert werden, um die zahlreichen Störungsmöglichkeiten aufzuzeigen. Traditionell wird die Pankreassekretion in eine cephalische, eine gastrale und eine intestinale Phase eingeteilt. Die "cephalische Phase" vermittelt zentralnervöse Einflüsse über den Vagus und führt zu einer

vermehrten Enzymausschüttung der Drüse, die durch Atropin hemmbar ist. Der Einfluß auf die Flüssigkeitsproduktion erscheint geringer, er ist durch Atropin nicht unterdrückbar. Die "gastrale Phase" wird ebenfalls durch eine überwiegende Stimulierung der Enzymsekretion gekennzeichnet, die durch mechanische und chemische Wirkungen in Corpus und Antrum ausgelöst werden kann. Der Effekt der Reizung des Corpus ventriculi kann durch Vagotomie aufgehoben werden, nicht der des Antrums.

Die "intestinale Phase" beschreibt den quantitativ wichtigsten Einfluß auf das Pankreas. Es werden hier im Duodenum durch chemische Reize (Säure, Peptide, Gallensalze) die Hormone Pankreozymin und Sekretin gebildet, die die Pankreassekretion unterschiedlich beeinflussen. Sekretin, ein linearer Polipeptid aus 27 Aminosäuren (Jorpes und Mutt 1957), stimuliert einen flüssigkeits- und bikarbonatreichen Pankreassaft mit geringem Enzymgehalt. Es steigert die Pankreasdurchblutung, was mit einer Zunahme der arteriovenösen O_2 -Differenz einhergeht (Thomas 1959). Der Abbau von Sekretin erfolgt größtenteils in der Leber, die biologische Halbwertszeit beträgt nach Lagerlöf (1962) 17,5 Minuten.

Im Gegensatz zu Sekretin beeinflusst Pankreozymin-Cholecystokinin, dessen C-terminales Oktapeptid große Ähnlichkeit mit Gastrin und Glukagon aufweist, fast ausschließlich die Ausschüttung von Enzymeiweiß, wozu allerdings eine gewisse Menge Flüssigkeit mit Bikarbonat und Chlorid als Vehikel benötigt wird (Harper 1967).

Die Verfügbarkeit dieser beiden Hormone in gereinigter Form macht es möglich, eine gleichbleibende Stimulation des Pankreas unter Versuchsbedingungen zu erreichen. Hemmende Einflüsse werden in ihrer Auswirkung auf Hydrochylie und Proteochylie differenziert, was bei einer stark schwankenden Basalsekretion nicht möglich ist.

Die im folgenden dargestellten Untersuchungen wurden beim Hund und beim Menschen durchgeführt. Das Versuchstier bietet die Möglichkeit, Pankreassekret ohne Verunreinigung mit Galle zu gewinnen, was besonders bei Injektion von Pankreozymin wichtig ist.

Es liegen daher weit mehr Untersuchungen beim Versuchstier als beim Menschen vor.

Die ersten Untersuchungen der Calciumausscheidung des Pankreas wurden von Walsh und Ivy (1927) und Ball (1930) am Hund und von Agren (1935) an der Katze durchgeführt. Walsh und Ivy fanden Werte von 2,5 bis 4,5 mval/l im Pankreassaft, Ball gibt Werte zwischen 1,8 und 2,0 mval/l vor und bis zu 4,6 mval/l nach Injektion von CaCl_2 (54 bzw. 75 mg Ca/kg KG) bei entsprechenden Serumwerten von 4,8 und 5,2 mval/l vor und 17,2 und 10,2 mval/l unmittelbar nach der Injektion. Ebenfalls beim Hund fand Komarov 1939 einen Calciumgehalt im Pankreassaft von 0,9 bis 3,7 mval/l.

Agren (1935) fand bei der Katze ein durchschnittliches Serum-Calcium von 6,1 mval/l. Nach Injektion von CaCl_2 (21 mg Ca/kg KG) stieg das Calcium im Serum auf über 12 mval/l und im Saft auf mehr als 23 mval/l an.

Es zeigt sich hier also ein deutlicher Speziesunterschied. Während beim Hund die Ca-Konzentrationen im Saft immer unter denen des Serums liegen, scheinen die Verhältnisse bei der Katze umgekehrt zu sein. Sie steigen unter Calciumzufuhr auf Werte an, die in einzelnen Fällen 300 % der Serumwerte betragen.

Neuere Untersuchungen über die Calcium-Ausscheidung des Pankreas liegen von McPherson und Pace (1967), Hershkovic et al. (1965) und Zimmermann et al. (1967) vor, die alle beim Hund vorgenommen wurden. McPherson und Pace fanden nach Injektion von Ca-Glukonat (90 - 180 mg Ca) keine Erhöhung der Calciumausscheidung des Pankreas bei einem Anstieg der Serumspiegel auf 6 - 9 mval/l. Hershkovic und Mitarbeiter (1965) sahen dagegen nach mehrtägiger Gabe von Parathormon (200 - 400 U i.m.) eine statistisch signifikante Erhöhung der Calciumkonzentrationen des Pankreassaftes während der Hypercalcämie.

In einigen Fällen übertraf die Calciumkonzentration des Pankreassaftes die des Serums. Der durchschnittliche Calciumgehalt des Pankreassaftes betrug unter Normalbedingungen 0,8 bis 4,6 mval/l. Sowohl McPherson wie auch Hershkovic bemerkten, daß die Calciumkonzentration im Saft

bei Sekretiongabe abnahm. Diese Angabe wird von Zimmermann (1967) bestätigt, der in umfangreichen Versuchen nachweist, daß sich die Calciumkonzentration im Pankreassaft umgekehrt proportional zur Sekretionsgeschwindigkeit verhält. Er gibt an, daß Calcium nicht mit der Hauptmenge der Elektrolyte korreliert, d.h. mit dem Bikarbonat, sondern eher mit dem die Enzyme enthaltenden Teil des Pankreassaftes zusammenhängt.

Da die Enzymsekretion durch Pankreozymin stimuliert wird, erschien es lohnend, der Frage nachzugehen, ob auch die Calciumausscheidung durch Pankreozymin gesteuert wird. Diese Untersuchungen wurden am Hund durchgeführt, da sich so relativ große Mengen reinen Pankreassaftes gewinnen lassen. Es ist jedoch nicht gerechtfertigt, beim Versuchstier gewonnene Erkenntnisse direkt auf den Menschen zu übertragen, wie schon aus den erheblichen Speziesunterschieden in der obigen Übersicht hervorgeht. Auch die Säuresekretion, die einen erheblichen Stimulus für die Pankreassekretion darstellt, ist unterschiedlich. So kann beim Hund die Magensäure nur etwa zu einem Drittel durch Pankreassekret neutralisiert werden, während beim Menschen und bei der Katze sich saures und alkalisches Sekret die Waage halten (Perrier et al. 1967). Es ist daher die Übertragbarkeit von im Tierversuch gewonnenen Erkenntnissen auf den Menschen genau zu prüfen und eine Überprüfung der Ergebnisse beim Menschen wünschenswert. Die für die Bewertung eines therapeutischen Einsatzes möglicherweise bedeutsame Frage, ob Glukagon eine Wirkung auf die Calciumausscheidung aufweist, wurde deswegen am Menschen untersucht.

2. Methodik

2.1 Gewinnung des Pankreassekretes

2.1.1 Thomasfistel des Duodenums; Operationsverfahren

Die Untersuchungen wurden an Bastardhunden beiderlei Geschlechts durchgeführt, die mit einer chronischen Duodenalfistel nach Thomas und Crider (1940) und einer Magenfistel versehen waren. Zur Einpflanzung der Fisteln wurde das Abdomen unter Pentobarbitalnarkose (30 mg / kg Körpergewicht) durch einen Medianschnitt eröffnet. Der Magen wurde elektrisch eröffnet und die mit einer Spitze versehene Magenfistel durch die linke laterale Abdominalwand nach außen gestoßen und mit Hilfe eines aufgeklebten PVC-Ringes fixiert. Die Magenwand wurde anschließend zweischichtig vernäht.

Der Ductus Santorini wurde palpiert und die gegenüberliegende Duodenalwand elektrisch eröffnet. In einzelnen Fällen war die Palpation des Ganges nicht möglich und das Duodenum mußte probatorisch eröffnet werden. Accessorische Pankreasgänge, die der ventralen Pankreasanlage entstammen und damit dem Ductus Wirsungianus entsprechen, wurden nach Möglichkeit unterbunden, um eine quantitative Sammlung des Sekrets zu erreichen. Das ovale Fußstück des inneren Teils der Fistel aus PVC wurde gegenüber der Papille in das Duodenum eingeführt. Der äußere Teil der Fistel wurde in die rechte laterale Abdominalwand eingepflanzt und mit dem inneren Teil verschraubt. Eine anfangs recht hohe Sterblichkeit in den ersten postoperativen Tagen durch Peritonitis infolge einer Insuffizienz der Duodenalnaht konnte durch Interposition des Netzes und seiner sorgfältigen Vernähung mit der Duodenalwand verringert werden.

Von 14 operierten Hunden starben innerhalb der ersten drei postoperativen Tage sechs Hunde an einer Perforationsperitonitis und ein Hund infolge einer Blutung aus der A.gastroepiploica dextra, nach einer Woche p.o. starb ein Hund durch Ileus (Bauchtuch), ein weiterer nach 14 Tagen aus unbekannter Ursache.

Von 14 Hunden überlebten 5 über mehr als drei Monate, vier davon standen für die Untersuchungen zur Verfügung (bei einem Hund war eine Kanülierung der Papille nicht möglich). Für die Versuche im Wachzustand wurden die Tiere in ein Geschirr gestellt, das ihnen eine gewisse Bewegungsfreiheit ermöglichte. Vor Beginn der Versuche wurde das Stehen im Geschirr 3-5 mal geübt, bei einer Versuchsdauer über 1 h wurden die Tiere jedoch meist so unruhig, daß der Versuch abgebrochen werden mußte.

Die Versuche wurden nach mindestens 12-stündigem Fasten durchgeführt. Die Magenfistel wurde geöffnet und der Sekret abgeleitet. In den Ductus Santorinus wurde durch die geöffnete Thomaskanüle unter Licht eine stumpfe Glaskanüle eingelegt und mit einer Weichgummimanschette in einem Thomaskanülenadapter (modifiziert nach Rudick und Dreiling 1968) befestigt. (Abb. 2) Diese Anordnung verhinderte eine Verschmutzung des Pankreassaftes mit Galle, die durch den seitlich an dem Adapter angebrachten Stutzen abgesaugt wurde.

Bei Versuchen in Narkose wurde das Pankreassekret direkt durch einen an der Glaskanüle befestigten PVC-Schlauch in ein eisgekühltes, graduiertes Zylinderglas abgeleitet. Eine Befestigung der Glaskanüle war nicht notwendig, Galle wurde unter Sicht abgesaugt.

2.1.2 Thomas-Kanüle mit Adapter

Maße und Form der Thomas-Kanüle gehen aus Abb. 1 hervor. Eine Verbesserung gegenüber dem ursprünglichen Modell stellen die inneren Führungsnuten dar, die ein externes Fixieren der Kanüle gestatten und einen Schutz gegen Torquierung des Duodenums beim Einschrauben bieten. Der innere Teil der Fistel besteht aus Hart-PVC, der äußere Teil aus V2A-Stahl.

Versuche, die Fisteln ganz aus Plastik herzustellen und so durch Gewichtsverminderung die Belastung der Tiere zu vermindern, führten nicht zum Ziel, da die Hunde die Gewinde zernagten.

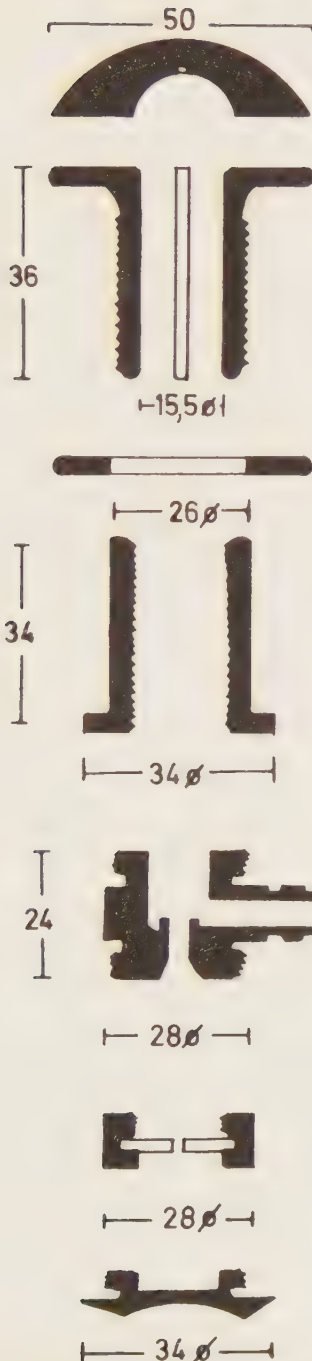


Abb. 2

Thomasfistel mit Adapter

1. Innerer Teil der Fistel
mit Führungsnut (PVC)

2. Unterlegscheibe (PVC)

3. Äußerer Teil der Fistel
mit Sechskant (V₂A)

4. Adapter mit Absaugstutzen
(PVC)

5. Weichgummidichtung und
Befestigungsring (PVC)

6. Verschluß (V₂A)

Der Adapter besteht aus mehreren Teilen:

- a) Reduzierstück mit seitlichen Stutzen zum Absaugen von Galle
- b) Weichgummidichtung
- c) Befestigungsring
- d) Überwurfmutter zum Befestigen eines Zentrifugenglases
(Teile a,c,d, aus Hart-PVC)

Das Reduzierstück (a) wird über die eingeführte Glaskanüle geschoben und in das Innengewinde der Thomas-Kanüle geschraubt, anschließend wird die Gummidichtung aufgesteckt und mit dem Befestigungsring (c) fixiert. Dies ermöglicht eine sichere Abdichtung gegen die Verunreinigung der Proben mit Gallensaft und gewährleistet eine ausreichende Beweglichkeit.

Die mit der Überwurfmutter (d) befestigten graduierten Zentrifugenröhrchen können ausgewechselt werden, ohne die in die Papille eingeführte Glaskanüle zu bewegen.

2.1.3 Duodenalsondierung nach Lagerlöf

Bei 11 männlichen und 9 weiblichen Probanden wurde Duodenalaspirat mit einer Duodenalsonde nach Lagerlöf gewonnen. Diese Sonde ist zweiläufig und gestattet das Absaugen von Magensekret während der Untersuchung. Die korrekte Lage der Sonde im Duodenum wurde röntgenologisch kontrolliert.

Die Sammlung des Sekretes erfolgte nach Ansaugen mit einer Rekordspritze durch freies Abfließen entsprechend dem Höhenunterschied zwischen Untersuchungsfläche und Sammelgefäß, der ca. 20 cm betrug.

Das Aspirat wurde in graduierten 100 ml Standzylindern gesammelt, die in Eis gekühlt wurden. Proben zur Bestimmung des Bikarbonatgehaltes wurden sofort nach Beendigung der Sammlung jeder Fraktion entnommen und in Salzsäurelösung überführt.

2.1.4 Aufbewahrung und Haltbarkeit des Pankreassekretes

Die Bestimmung der Enzyme im Pankreassaft erfolgte in der Regel nach 2-5 stündiger Aufbewahrung der Proben in Eiswasser. Nach Bastian (1970) beträgt der Aktivitätsverlust bei achtstündiger Aufbewahrung in Eiswasser bei Lipase 18 % und bei Trypsin . %. Chymotrypsin zeigte keine deutliche Abnahme. Die Elektrolytbestimmungen erfolgten nach mehrtägiger Aufbewahrung der Proben im Kühlschrank.

2.2 Bestimmungsmethoden

2.2.1 Protein

Das Protein wurde mit der Biuretmethode nach Weichselbaum in der Modifikation von Beisenherz et al. 1953 bestimmt. Trübungsfehler wurden durch Zugabe von KCN vermieden. (Bode et al. 1968). Auf eine Fällung des Eiweißes mit Trichloressigsäure wurde verzichtet, da eigene Vergleiche ergaben, daß dies in reinem Pankreassaft keine Vorteile bietet und Verdünnungsfehler auftreten können. (Dieses Verfahren eignet sich nur für reines Pankreassekret und ist nicht für mit Galle verunreinigten Duodenalsaft geeignet.)

Durchführung: 0,5 ml Pankreassaft werden mit 2,5 ml Biuretreagenz (1) vermischt und nach 30 min. mit 2,5 ml Aqua dest. verdünnt. Nach sorgfältigem Mischen Messung der Extinktion bei 546 nm (Photometer Eppendorf) gegen Luft, Zugabe einer Spatelspitze KCN, durchmischen, zwei Minuten stehen lassen. Erneute Messung der Extinktion. Von der Differenz der Extinktionen wird die entsprechend ermittelte Extinktion des mitgeführten Leerwertes (2,5 ml Biuretreagenz, 3 ml Aqua dest.) abgezogen und das Ergebnis mit dem Faktor 16 multipliziert, der durch Messungen an Rinderalbumin ermittelt wurde.

Reagentien: Biuret-Reagenz

0,2-m NaOH, 0,045-m KNa-Tartrat, 0,012-m
 CuSO_4 0,017-m KJ in wässriger Lösung

2.2.1.1 Trypsin beim Hund

Trypsin wurde nach Schwert und Takenaka (1955) mit N-Benzoyl-L-Argininäthylester (BAEE) als Substrat nach Inkubation mit Enterokinase bestimmt. Die Spaltung der Erstverbindung wurde bei 154 nm im Zeiss Spektralphotometer PMQ II bei 25° C gemessen. Die Differenz der Extinktionskoeffizienten beträgt bei vollständiger Spaltung $1,15 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ (Rick et al 1961).

Durchführung: 1 ml Pankreassaft wird mit 0,1 ml Enterokinase (1) und 0,9 ml Tris- CaCl_2 - Puffer (2) eine Stunde bei 25° C inkubiert. 3,15 ml Substratlösung (3) werden in einer Quarzküvette (d = 1 cm) vortemperiert und die Reaktion durch Zugabe von 0,05 ml aktiviertem Duodenalsaft gestartet.

Reagentien:

- (1) Enterokinase-Lösung
1 mg Enterokinase in 1 ml 0,9 % NaCl
- (2) Tris- CaCl_2 - Puffer pH 7,8
Trishydroxymethylaminomethan 50 mmol
 CaCl_2 20 mmol
- (3) Substratlösung pH 8,0
N-Benzoyl-L-Argininäthylester 1 mmol
Trishydroxymethylaminomethan 50 mmol
 CaCl_2 20 mmol

2.2.1.2 Trypsin beim Menschen

Entsprechend den Empfehlungen des Standardisierungskomitees des European Pancreatic Club (Brüssel 1971) wurde die Trypsinaktivität mit N-p-Toluolsulfonyl-L-Argininester (TAME) 280 als Substrat bei 247 nm und 25° C gemessen. Die Differenz der Extinktionskoeffizienten von Substrat und unveresterter Aminosäure beträgt $0,540 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-6}$ (Mitteilung der 1. Med. Klinik der Univ. Düsseldorf) ($0,624$ eigene Messung).

Durchführung: Nacheinander werden 2,6 ml Tris-Puffer (1), 0,3 ml Substrat (2) und 0,1 ml Duodenalsaft in die temperierte Küvette pipettiert und die Extinktionsänderung registriert.

Reagentien:

(1) Tris-Puffer pH 8,1	
Tris(hydroxymethyl)aminomethan	46 mmol
CaCl ₂	11 mmol
(2) TAME in Wasser	10 mmol

(Anmerkung: Die mit TAME gemessenen Werte liegen um den Faktor 4,3 höher als die mit BAEE gemessenen)

2.2.2.1 Chymotrypsin beim Hund

Die Bestimmung erfolgte nach Hummel 1959 mit N-Benzoyl-L-Tyrosin-Äthylester (BTEE) als Substrat, nach Inkubation mit Enterokinase (siehe Trypsin) im Zeiss Spektralphotometer PMQ II bei 256 nm und 25° C.

Der Berechnung der Aktivität wurde eine Extinktionsdifferenz von $0,81 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-6}$ zugrunde gelegt.

Durchführung: 5,15 ml Substratlösung (1) werden in einer Quarzküvette (d=1 cm) auf 25° C temperiert und die Spaltung des Esters nach Zugabe von 0,05 ml aktiviertem Pankreassaft registriert.

Reagentien:

(1) Substratlösung	pH 7,0
BTEE	1 mM
CaCl ₂	20 mM
Tris(hydroxymethyl)aminomethan	50 mM
in Methanol 25 % (v/v)	

2.2.2.2 Chymotrypsin beim Menschen

Entsprechend der Empfehlungen des Standardisierungskomitees des European Pancreatic Club wurde die Substratlösung folgendermaßen modifiziert:

Substratlösung	pH 7,8
BTEE	0,5 mM
CaCl ₂	50,0 mM
Tris(hydroxymethyl)aminomethan	40 mM in Methanol 50 % (w/w)

2.2.3 Lipase

Die Lipase wurde titrimetrisch mit Olivenöl als Substrat (Benzoana et al. 1965) modifiziert nach den Angaben von Marchis-Mouren et al. 1959 und Rick (1961) mit der pH-stat-Methode gemessen. Dabei wird einer Olivenölemulsion kontinuierlich eine den entstehenden Fettsäuren äquivalente Menge Natronlauge zugegeben und die für die Konstanthaltung des pH nötige Zufließgeschwindigkeit registriert.

Durchführung: 15 ml einer Olivenölemulsion (1) werden 0,03 ml 20 %iges Na-Taurocholat und 0,1 - 0,001 ml Pankreassaft (1:10 mit Aqua bid. verdünnt) zugegeben. Bei 25° C und pH 9,0 wird die zur Konstanthaltung des pH benötigten Laugenmenge automatisch zugegeben und

registriert. Die Angabe erfolgt in μmol freigesetzte Fettsäuren /ml . min = U/ml.

Reagentien: (1) Olivenöl-Emulsion

12 ml Olivenöl DAB 6 werden mit 100 ml einer 10 %igen Gummi arabicum-Lösung im Eisbad 4x1 min. emulgiert (Ultraturrax) und kurz vor Gebrauch auf 25° C erwärmt und mit 1-n NaOH auf pH 9,0 eingestellt.

2.2.4 Calcium

Calcium wurde mit dem Flammenphotometer Eppendorf (Eppendorf Gerätebau Metheler & Hinz GmbH Hamburg) bei 622 nm mit Acetylen als Brenngas gemessen. Eine Korrektur für unterschiedliche Bzw ißgehalte des Pankreassaftes erfolgte nicht. Alle flammenphotometrischen Messungen wurden in Doppel- und Dreifachbestimmungen vorgenommen.

Durchführung: Einstellung des Nullwertes mit Calcium-Kompensationslösung (10 ml Netzmittellösung Nr. 076010 und 10 ml Kompensationslösung Nr. 07 60 20 der Fa. Eppendorf ad 200 ml Aqua bidest.) und Messung der Probe (1:20 mit Aqua bidest verdünnt) bzw. des ebenso verdünnten Standards (Lab-Trol^R, Fa. DADE, Miami, Fla. USA).

2.2.5 Kalium und Natrium

Die Alkalimetalle wurde flammenphotometrisch mit dem Flammenphotometer Eppendorf (s.o.) bei 589 nm (Kalium) und 768 nm (Natrium) mit Propan als Brenngas gemessen.

Durchführung: Verdünnung von Probe und Standard (1) mit Netzmittellösung (2) im Verhältnis 1:100. Einstellung des Nullpunktes mit Netzmittellösung (2), Messung der Probe gegen den Standard (1).

Reagentien: (1) Standardlösung Eppendorf Best.Nr.
076000 (Na 143,5 mval/l, K 3,84 mval/l,
Ca 5,00 mval/l, Li 2,00 mval/l, P 2,9
mval/l)

(2) Netzmittellösung
2000 ml Aqua bidest
10 ml Salzsäure 25%
10 ml Sterox (wässrige Lösung von
Polyäthylenthioester 20 g/l,
Fa. Monsanto, St.Louis, USA)

2.2.6 Bikarbonat

Die Bikarbonatbestimmung erfolgte in Anlehnung an Hodes (1953). Dabei wird eine bekannte Menge an H^+ der Probe hinzugefügt. Das dabei entstehende CO_2 entweicht und es wird eine dem Bikarbonat äquivalente Menge H^+ verbraucht. Der Überschuß an vorgelegten H^+ wird mit OH^- rücktitriert, wobei die Differenz zwischen vorgelegter und rücktitrierter Säure dem Bikarbonatgehalt der Probe äquivalent ist.

Es erwies sich, daß das von Hodes angegebene Schütteln für 2 min. nicht ausreicht, um alles CO_2 auszutreiben. Erst Erhitzen im Wasserbad auf $100^\circ C$ für 10 min. ergab reproduzierbare Resultate. (Dieses Verfahren wurde bereits von Komarov et al 1939 angegeben).

Durchführung: 1 ml Sekret wird mit 1 ml 0,1-n HCl und 5 ml Aqua dest. (CO₂-frei) 10 min. im kochenden Wasserbad erhitzt und nach Abkühlung mit 0,1-n NaOH gegen Phenolrot als Indikator bis zum Farbumschlag titriert.

2.3 Bezugsquellennachweis

Sekretin: GIH-Unit, Karolinska Institut, Stockholm

Pankreozymin: GIH-Unit, Karolinska-Institut, Stockholm
(Angaben in Ivy Dog Units; 1 E entspricht
4 Crick-Harper-Raper Units)

Glukagon: Fa. Eli Lilly, Gießen

Enterokinase: Koch and Light Laboratories

BAEE, TAME: Fa. Serva, Heidelberg

Pentobarbital: Nembutal^R, Fa. Abbot, Ingelheim

Alle anderen verwandten Chemikalien waren p.A. Praeparate der Fa. Merck, Darmstadt.

2.4. Statistische Auswertung

Nach Worning (1946) zeigt das Volumen des Duodenalsekretes in guter Näherung eine Normalverteilung, während die Enzymkonzentrationen positiv schiefe Verteilungen zeigen, die nach Hald (1952) einer logarithmisch-normalen Verteilung entsprechen. Für die Bikarbonatkonzentrationen liegt keine Untersuchung vor. Eine graphische Darstellung (Abb. 3) zeigt eine Verteilung, die etwa einer Normalverteilung entspricht.

Es wurden daher allen Berechnungen der Enzymkonzentrationen und -mengen wie denen der Calcium- und Magnesiumwerte im Pankreassekret und Duodenalaspirat logarithmisch transformierte Werte zugrunde gelegt, für Volumen und Bikarbonat

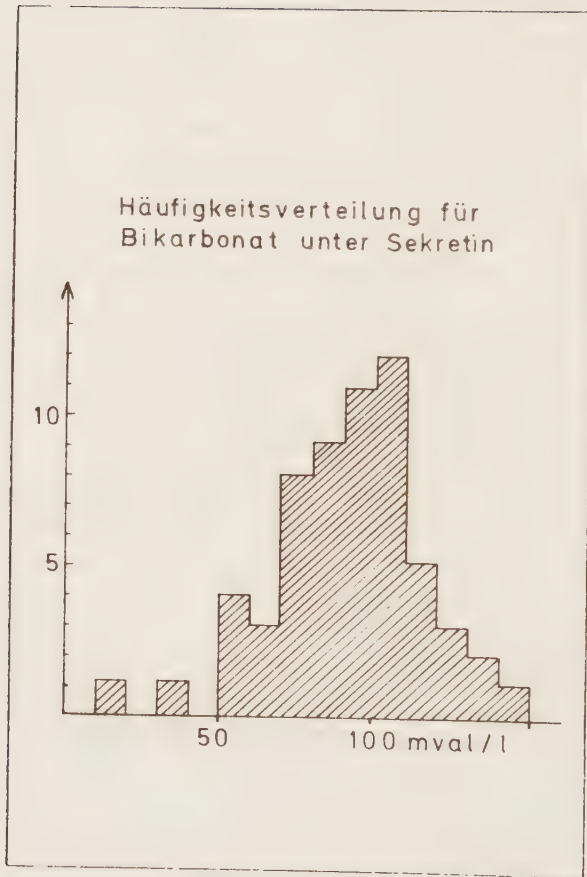


Abb. 3
Bikarbonatkonzentration im menschlichen Duodenal-
aspirat unter Sekretin-Stimulation (1 E/kg.h)

wurde eine Normalverteilung angenommen.

Alle Berechnungen wurden mit Hilfe einer Olivetti Programma 101 durchgeführt, die Signifikanzwerte wurden mit dem t-Test nach Student berechnet und die p-Werte den statistischen Tabellen der Dokumenta Geigy (6. Auflage 1960) entnommen.

Folgende Werte wurden bei den Berechnungen ermittelt:

Mittelwert

Standardabweichung

Korrelationskoeffizient r

Steigung der Regressionsgeraden B

Die Vertrauensintervalle der Korrelationskoeffizienten wurden über die z-Transformation nach R.A.Fisher bestimmt.

3. Ergebnisse

3.1 Einfluß von Sekretin auf die Pankreassekretion des Hundes

3.1.1 Maximale sekretorische Kapazität des Sekretin-stimulierten Pankreas des Hundes

Das Verhalten von Volumen, Protein und Calcium unter Infusion von steigenden Sekretin-Dosen beim anaesthetisierten Hund zeigt Abbildung 4.

Die Konzentration von Protein und Calcium nimmt bei steigendem Sekretionsvolumen ab, während Kalium und Natrium in unveränderter Konzentration ausgeschieden werden. Die Konzentration von Natrium und Kalium entspricht der des Serums. Weiterhin zeigt Abbildung 4, daß eine maximale Flüssigkeitsausschüttung mit 2 E Sekretin/kg.h erreicht wird.

3.1.2 Das Verhältnis der Calcium- und Proteinkonzentration unter Sekretin-Stimulierung

Abb. 4 zeigte, daß sich die Konzentrationen von Calcium und Protein umgekehrt proportional zur Flüssigkeitsausscheidung verhalten. Calcium und Protein verlaufen jedoch nicht

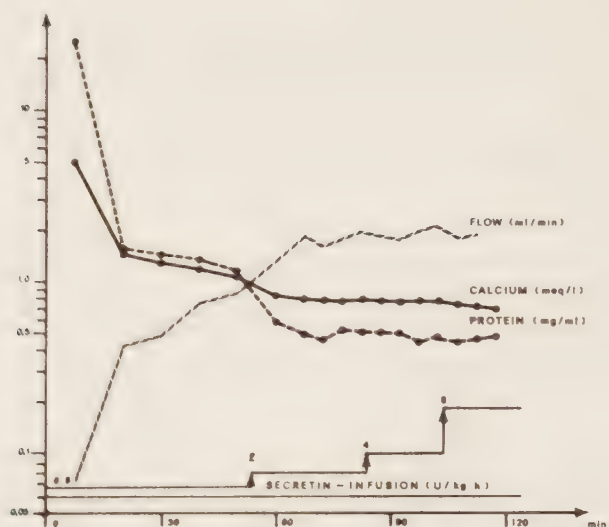


Abb. 4

Calcium- und Proteinkonzentration im Pankreassaft
des Hundes in Abhängigkeit von der Flüssigkeits-
sekretion (Einzelversuch)

sen ist, während der Sekret Ca⁺⁺ nicht bei steigendem Sekretionsvolumen ab.

Eine feste Korrelation zwischen Calcium und Protein läßt sich nicht nachweisen. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r für 20 Messungen aus 5 Versuchen ergab ein $r=0,4$, das sich nicht signifikant von Null unterscheidet ($p = 0,1$).

Die Konzentration der Elektrolyte im Pankreassaft unter Sekretin-Stimulation ergab sich $0,79 \pm 0,13$ mval/l ($\bar{x} \pm s$), für Protein $0,7 \pm 0,32$ mg/ml.

3.2 Einfluß der Pankreozymin-Stimulation auf die Pankreassekretion des Hundes

3.2.1 Ausscheidung von Flüssigkeit, Protein und Calcium im Pankreassaft des Hundes

Um den Einfluß von CCK auf die Pankreassekretion zu untersuchen, wurde unter einer Basis-Stimulation mit Sekretin (1 E/kg.h) Pankreozymin als Einzelinjektion gegeben.

Diese Anordnung ermöglicht es, den durch Pankreozymin verursachten Zuwachs von der Proteinfraktion zu trennen, ohne den Nachteil der sehr geringen Volumina bei alleiniger Pankreozyminstimulation in Kauf nehmen zu müssen.

Die Versuche wurden nach einem einheitlichen Schema durchgeführt. Nach einer kurzen Basisperiode wurde Sekretin (1 E/kg.h) infundiert und über 30-45 min in 5-15 min Perioden in graduierten Zentrifugenröhrchen gesammelt und das Volumen gemessen. Bei den Versuchen im Wachzustand (1-3, 1-4) wurden die Gläschen sofort nach der Sammlung eisgekühlt, bei den übrigen Versuchen erfolgte die Kühlung bereits während der Sammlung. Anschließend wurde CCK (2,5 E/kg.h) injiziert. Diese Stimulation wurde nach 45-60 min ein- bis zweimal wiederholt.

Abb. 5 zeigt, daß die Flüssigkeitssekretion durch Pankreozymin-Stimulation nur kurzfristig und geringfügig gesteigert wird. Die Konzentration von Natrium und Kalium bleibt



Abb. 5

Wirkung von Pankreozymin auf die Ausscheidung von Flüssigkeit, Protein und Calcium im pankreassaft des Hundes. Basisstimulation mit Sekretin.

unverändert. Die Ausscheidung von Calcium und Protein zeigt einen extremen Anstieg und kehrt nach 40-60 min zu den Ausgangswerten zurück.

Die Konzentrationen der Enzyme Trypsin, Chymotrypsin und Lipase verhielten sich proportional der Protein-Konzentration.

Die Einzelwerte der Enzyme können den Tabellen im Anhang entnommen werden (1-4, 2-1, 2-2, 2-3).

Die Berechnung der Mittelwerte für Calcium und Protein in den ersten 30 min nach Pankreozymininjektion ergibt folgende Werte:

Tab. 1:

Protein (mg/ml)	14,5 ± 10,5
Calcium (mval/l)	1,824 ± 1,0

Korrelationskoeffizient $r = + 0,826$

Steigung der Regressionsgeraden (x,y) + 0,0819

(Werte aus 7 Versuchen mit 16 Stimulationen, 75 Einzelwerte).

3.2.2 Das Verhältnis der Calcium- und Proteinkonzentration unter Pankreozymin-Stimulierung

Calcium und Protein zeigen eine hochsignifikante positive Korrelation ($r = + 0,826$). Abb. 6 stellt die Korrelation graphisch dar.

Für die Regressionsgerade ergibt sich folgende Beziehung:

$$y = 0,0819 x + k,$$

wobei k dem nicht mit Protein korrelierenden Calciumwert entspricht. Durch Einsetzen der Mittelwerte aus Tab. 1 ergibt sich $k = 0,92$ (mval Ca / l).

Für die unter Sekretinstimulation gefundene Proteinkonzentration von 0,7 mg/ml ergibt sich ein Erwartungswert für Calcium von 0,98 mval/l, der etwas höher als der gemessene Wert von 0,79 mval/l liegt.

Die Steigung der Regressionsgeraden 0,082 entspricht dem in pval gemessenen Calciumwert, der einem mg Protein entspricht.

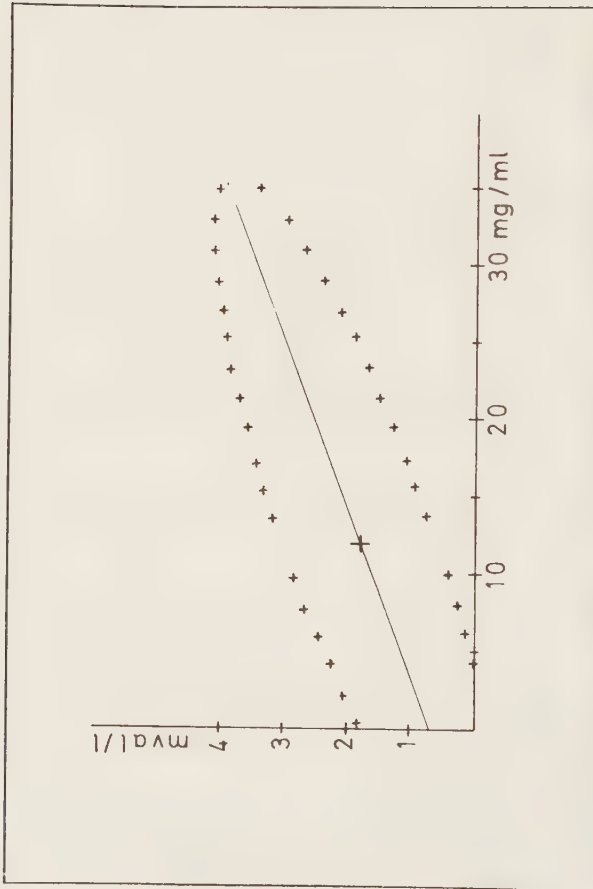


Abb. 6
Korrelation zwischen Calcium (mval/l) und Protein (mg/l) im reinen
Pankreassaft des Hundes

3.2.3 Kinetik der Pankreozyminwirkung auf das Pankreas des Hundes

Um die kurzfristigen Änderungen von Calcium- und Proteinkonzentrationen zu erfassen, wurde in diesem Experiment beim narkotisierten Hund Pankreassaft in Abständen von 30 bis 60 sec. gesammelt. Sofort nach der Injektion von CCK, die 15 sec. dauerte, stiegen Protein und Calciumkonzentrationen steil an. In der zweiten Minute post injectionem wurden mit 4,95 mval/l Calcium und 32 mg/ml Protein die höchsten Konzentrationen erreicht, während in der dritten Minute bereits der langsame Abfall zur Norm eintrat.

Der Abfall zeigt auch bei dem für die Abb. 7 gewählten logarithmischen Maßstab die Form einer Exponentialfunktion. Dies entspricht den theoretischen Vorstellungen über die Dosis-Wirkungsbeziehung wie auch der Elimination bzw. Inaktivierung eines Hormons (Dost 1968).

Der Abfall der Konzentrationen von Calcium und Protein erscheint nicht parallel. Werden die Werte jedoch auf den durch CCK bewirkten Anstieg der Konzentrationen bezogen, zeigt sich eine deutliche Übereinstimmung der Verläufe von Calcium und Enzymprotein.

3.3 Einfluß der Carbaturat-Narkose auf die Sekretion von Calcium und Protein

Der Abfall der Proteinkonzentration im Pankreassaft des Hundes ist in Abb. 7 dargestellt.

20 min nach Beginn der Narkose fielen die Proteinkonzentrationen auf minimale Werte von 0,2 mg/ml ab, während die Calcium-Sekretion kaum beeinflusst wurde. Die maximale Proteinkonzentration nach CCK-Injektion betrug im Wachzustand 26,8 mg/ml ($n = 3$), während sie in Narkose 20,3 mg/ml ($n = 9$) betrug. Dies entspricht einer Verminderung um 24 %.

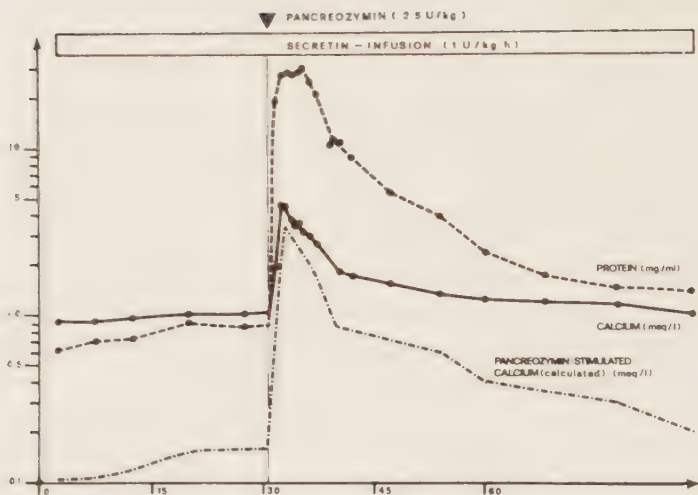


Abb. 7 a

Protein- und Calciumkonzentration im Pankreassaft des Hundes nach Pankreozymininjektion

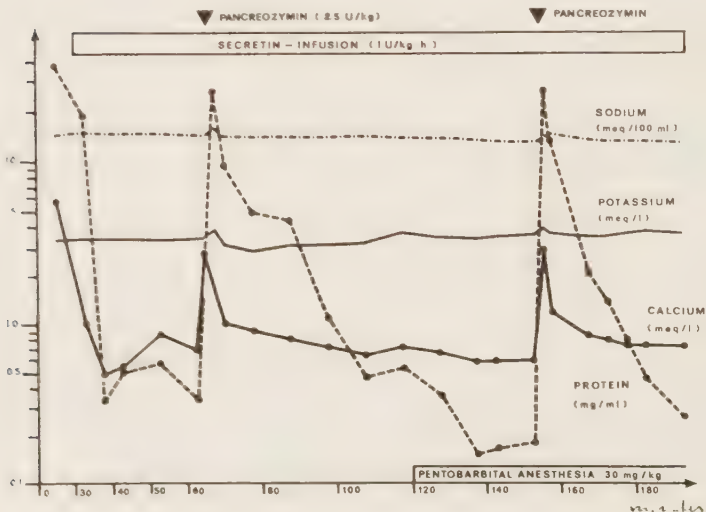


Abb. 7 b

Einfluß einer Pentobarbitalnarkose auf die Protein- und Calciumkonzentration im Pankreassaft des Hundes

3.4 Einfluß von Glukagon auf die Sekretin-stimulierte Pankreassekretion des Menschen

Die Versuche wurden unter einer Dauerstimulierung mit Sekretin (1 E/kg.h) durchgeführt. Nach einer einstündigen Vorperiode wurde Glukagon (1 bzw. 5 mg/75 kg.h) infundiert. Den Versuchsablauf zeigt Abb. 8. Die Mittelwerte der jeweils 15 min umfassenden Sammelperioden, die mit 1-9 nummeriert wurden, befinden sich im Anhang.

3.4.1 Einfluß von Glukagon auf die Flüssigkeitsekretion

Der Anstieg des Volumens auf ca. 5 ml/min unter der Sekretin-Infusion setzt sich noch während der ersten 15 min unter Glukagon fort. Dann erfolgt ein Abfall um 1-1,5 ml/min. Der langsame Anstieg des Volumens unter Sekretin bedingt, daß sich die Mittelwerte der Sekretion unter Glukagon nicht signifikant von der Vergleichsperiode ohne Glukagon unterscheiden.

Unter einer Infusion von 1 mg Glukagon/h war die Flüssigkeitsausscheidung geringfügig erhöht, unter 5 mg Glukagon war sie um 0,4 ml/min erniedrigt. (Mittelwerte der Ausscheidung 15-60 min nach Infusionsbeginn; der Unterschied ist nicht signifikant).

3.4.2 Einfluß von Glukagon auf die Bikarbonatausscheidung

Die Bikarbonatkonzentration erreicht 30 min nach Beginn der Sekretinfusion ihr Plateau. Nach Beginn der Glukagoninfusion kommt es zu einem kurzfristigen Abfall. Die Mittelwerte der Vergleichsperioden unterscheiden sich nicht signifikant.

Nach 1 mg Glukagon war der Mittelwert geringfügig abgefallen, nach 5 mg leicht angestiegen (nicht signifikant).

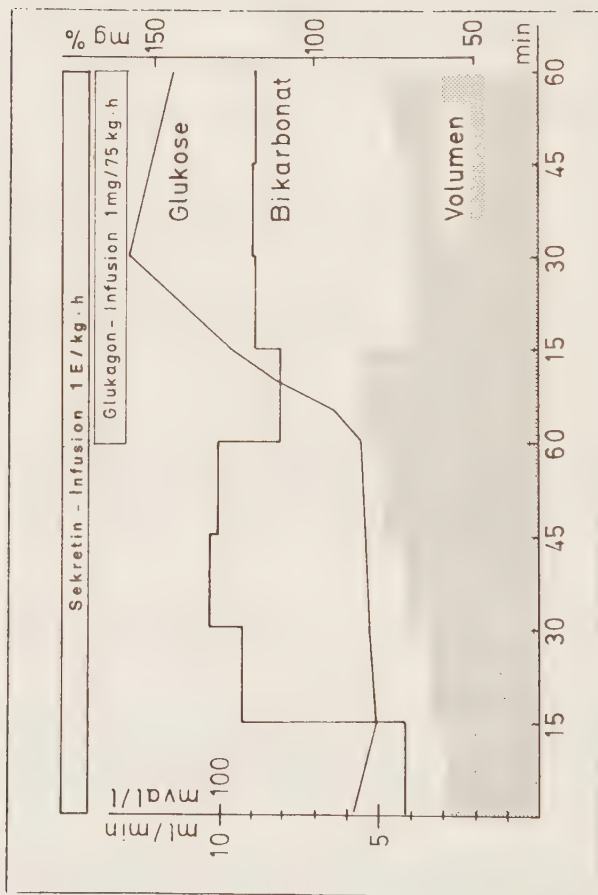


Abb. 8
Einfluß von Glukagon auf die Flüssigkeits- und Bikarbonatsekretion des Pankreas des Menschen und den Blutzucker (Mittelwerte aus 5 Versuchen)

3.4.3 Einfluß von Glukagon auf die Enzymausscheidung

Trypsin, Chymotrypsin und Lipase fallen unter Glukagon signifikant ab. Der Abfall ist beim Trypsin am geringsten ausgeprägt (Tab. 2).

3.4.4 Einfluß von Glukagon auf die Elektrolytausscheidung

Calcium und Magnesium im Duodenalsaft zeigen unter 1 mg Glukagon einen geringfügigen Anstieg, unter 5 mg einen Abfall. Die Änderungen sind nicht signifikant.

Tabelle 2:

	1 mg <u>Glukagon</u>	5 mg
Volumen (ml/min)	4,8 (4,5)	5,1 (5,4)
Bikarbonat (uval/min)	483 (453)	463 (432)
Trypsin (U/min)	55 ⁺ (32)	62 ⁺ (68)
Chymotrypsin (U/min)	32 ⁺ (35)	17 ⁺ (37)
Lipase (U/min)	710 ⁺⁺ (1750)	610 ⁺⁺ (2440)
Magnesium (uval/min)	1,0 (0,9)	1,05 (1,1)
Calcium (uval/min)	2,8 (2,3)	3,7 (2,7)

Mittelwerte der Ausscheidung im Duodenalaspirat 15-60 min nach Glukagoninfusion. In Klammern Werte der Vergleichsperiode. ⁺ bedeutet Signifikanz, ⁺⁺ hohe Signifikanz des Unterschiedes zur Vergleichsperiode.

3.5 Einfluß von Glukagon auf eine nachfolgende Sekretion mit Pankreozymin

Im Anschluß an die kombinierte Infusion von Sekretin (1 E/kg.h) und Glukagon (1 bzw. 5 mg/75 kg.h) erfolgte eine Stimulierung durch Einzelinjektion von 1 E/kg Pankreozymin.

Tabelle 3 zeigt die Durchschnittswerte der 15-min-Periode nach der Injektion.

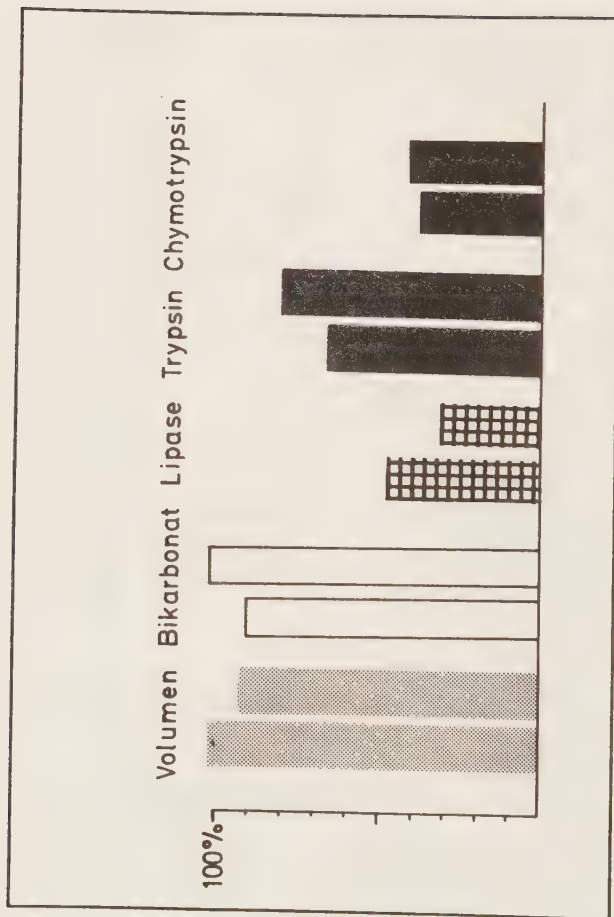


Abb. 6 a

Wirkung von Glukagon auf die Sekretin-stimulierte Pankreassekretion des Menschen. Angaben in Prozent der Vergleichsperiode ohne Glukagon. Die erste Säule entspricht der Hemmung durch 1 mg/75 kg.h, die zweite der durch 5 mg/ 75 kg.h.

Tabelle 3

Ausscheidung / min nach Injektion v. 100 µg nach vorangehender Infusion von 1 c.v. 5 mg Glukagon und Secretin

	ml/min	/uval/min	U/min	U/min	U/min	U/min	/uval/min	/uval/min
	Volumen	Bikarbonat	Trypsin	Symotrysin	Lipase	Regresium	Calcium	
1 mg	9,24	498	496	242	5272	6,1	20,4	
5 mg	7,6	542	387	108 ⁺	2145 ⁺	13 ⁺	8,64	
=	83%	110%	78%	45%	41%	213%	42%	

+ p < 0,05

Bei vorausgegangener Infusion von 5 mg sind gegenüber der Hemmung mit 1 mg Chymotrypsin ($p < 0,025$) und Lipase ($p < 0,0125$) signifikant vermindert, Trypsin ($p < 0,5$), Calcium ($p < 0,1$) und Volumen ($p < 0,5$) sind vermindert, die Bikarbonatausschüttung ist erhöht ($p > 0,3$).

Auffällig ist eine signifikante Erhöhung der Magnesiumausscheidung. Diese Erhöhung der Magnesiumausscheidung wird noch deutlicher, wenn man den Quotienten Enzym/divalentes Kation bildet. Er ist für Calcium in beiden Gruppen gleich (Chymotrypsin/Ca 12, Lipase/Ca 200, bei Magnesium sinkt er in der 5 mg Glukagon-Gruppe auf 20 % des Wertes der 1 mg-Gruppe ab. Es wird also pro Enzyeinheit die fünffache Magnesiummenge ausgeschieden.

Die Summen der Konzentrationen von Magnesium und Calcium sind dagegen mit 2,38 mmol/l in beiden Gruppen gleich.

3.6 Einfluß von Glukagon auf die kombinierte Sekretin-Pankreozymin-Stimulation des Pankreas des Menschen

Während einer zweistündigen Stimulierung des Pankreas mit Sekretin (1 E/kg.h) und Pankreozymin (1 E/kg.h) wurde in der ersten bzw. der zweiten Stunde zusätzlich Glukagon (5 mg/75 kg.h) infundiert. Es werden im folgenden die Mittelwerte der Glukagonperiode mit denen der Vergleichsperiode verglichen, wobei jeweils die ersten 15 min nicht berücksichtigt wurden.

3.6.1 Verhalten der Serumwerte unter Glukagon

Das Verhalten von Blutzucker und Calcium und Magnesium im Serum zeigt Abbildung 9.

3.6.2 Einfluß von Glukagon auf die Flüssigkeitssekretion

Bei beiden Versuchsanordnungen wurde das Volumen um 0,4-0,8 ml/min vermindert.

Diese Veränderung war nicht signifikant.

3.6.3 Einfluß von Glukagon auf die Bikarbonatsekretion

Die Ausscheidung von Bikarbonat wurde in beiden um 50-130 μ val/min gesteigert. Bei Glukagongabe war dieser Unterschied signifikant.

3.6.4 Einfluß von Glukagon auf die Enzymsekretion

Trypsin, Chymotrypsin und Lipase zeigten unter Glukagon eine signifikante bis hochsignifikante Verminderung um 50-70 %.

Abbildung 10 zeigt das Verhalten der Enzyme unter Glukagon.

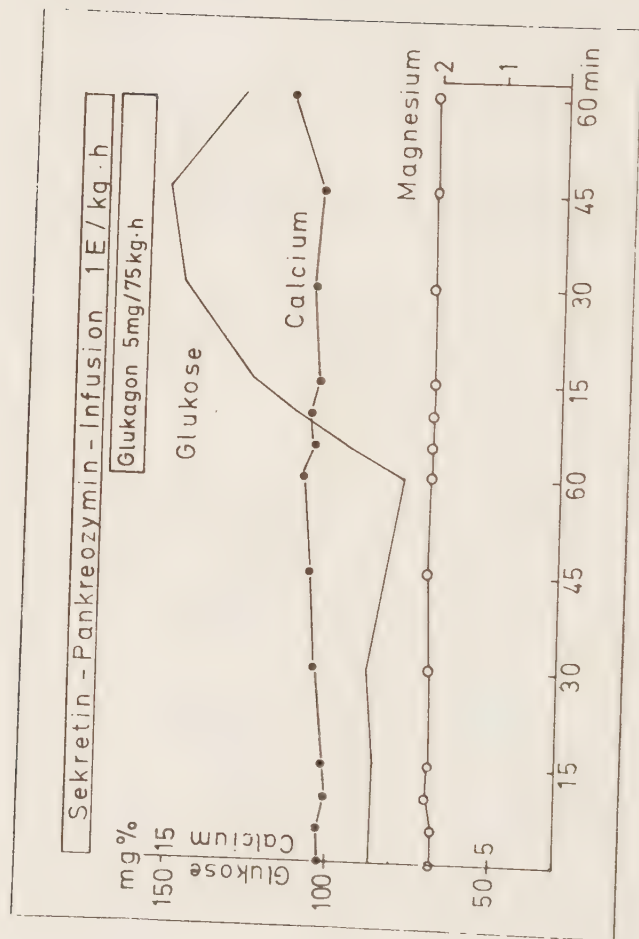


Abb. 2

Einfluss von Glukagon auf die Serumwerte von Calcium und Magnesium und den Glukosegehalt

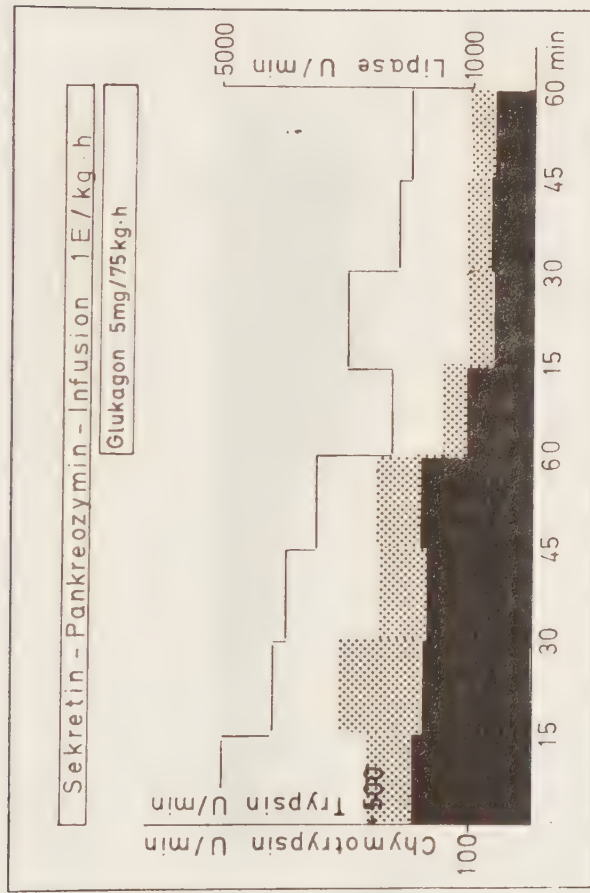


Abb. 10 a

Hemmung der Enzymsekretion des Pankreas durch Glukagon

a) Wirkung von Glukagon auf die kombinierte Stimulation mit Pankreozymin und Sekretin (Lipase hell, Trypsin schraffiert, Chymotrypsin dunkel)

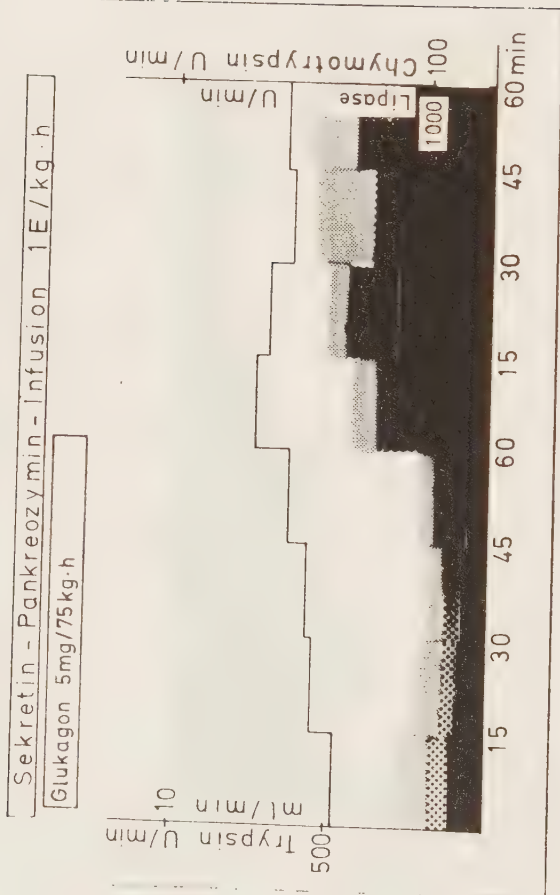


Abb. 10 b

Hemmung der Enzymssekretion des Pankreas durch Glukagon

b) Einfall der Hemmung der Enzymssekretion durch Glukagon

(Lipase hell schraffiert, Trypsin dunkel schraffiert, Chymotrypsin schwarz)

3.6.5 Einfluß von Glukagon auf die Elektrolytsekretion

Die Calciumausscheidung war in beiden Gruppen vermindert, bei initialer Hemmung war die Verminderung signifikant.

Die Magnesiumausscheidung war in beiden Gruppen hochsignifikant vermindert.

3.6.6 Einfluß von Glukagon auf das Verhältnis Enzym/dival. Kationen

Die Betrachtung des Verhältnisses Enzym/Calcium zeigt, daß der Quotient unter Glukagon um 50 % vermindert ist. Es wird also unter Glukagon mehr Calcium pro Enzyeinheit ausgeschieden als in der Kontrollperiode. Der Quotient Enzym/Magnesium bleibt unverändert.

Abbildung 11 stellt zusammenfassend die Volumen- und Enzymsekretion des Pankreas unter Glukagon den Werten der Vergleichsperiode gegenüber.

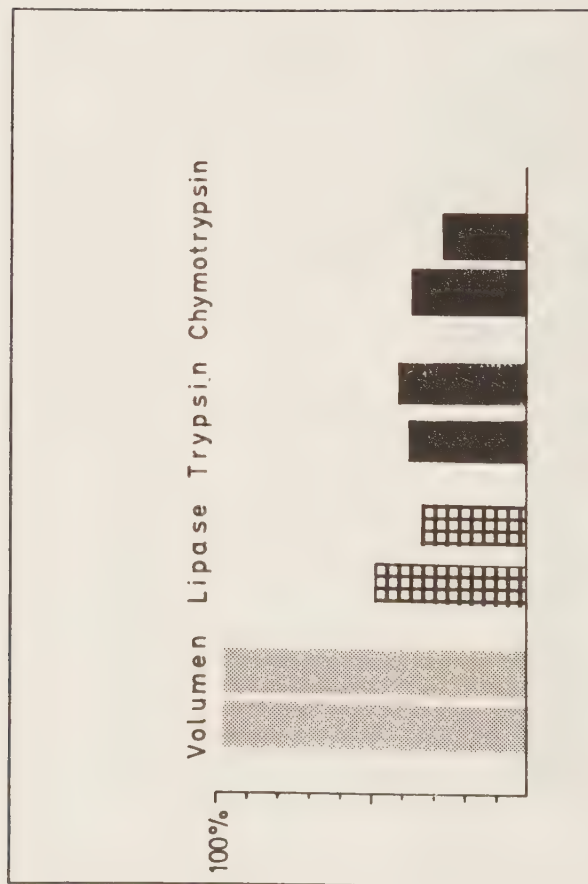


Abb. 11
Wirkung von Glukagon auf die Volumen- und Enzymsekretion des Pankreas in Prozent der Vergleichsperiode (siehe Text).
Die jeweilige erste Säule zeigt die Werte bei terminaler Hemmung mit Glukagon, die zweite Säule die bei initialer Hemmung (Gruppe 4) gewonnenen Werte.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die maximale Stimulation des exkretorischen Pankreas beim Hund wird mit 2 E/kg.h Sekretin und mit 2,5 E/kg Pankreozymin erreicht.
2. Unter halbmaximaler Sekretin-Stimulation beträgt die Konzentration von Protein $0,7 \pm 0,32$ mg/ml und von Calcium $0,79 \pm 0,13$ mval/l. Protein und Calcium korrelieren nicht signifikant.
3. Die Wirkung einer Pankreozymin-Injektion erreicht nach zwei Minuten ihren Gipfel mit Protein-Konzentrationen von 32 mg/ml und Calcium-Konzentrationen von 4,95 mval/l.
4. Calcium und Protein zeigen eine hochsignifikante Korrelation unter Pankreozymin-Stimulation.
5. Einem Zuwachs der Protein-Konzentration um 1 mg entsprechen ca. 0,1 μ val Calcium.
6. Glukagon hemmt die Pankreassekretion. Es führt zu einer signifikanten Erniedrigung der Enzymkonzentration und -ausscheidung; wie auch der Calcium- und Magnesiumkonzentration und -ausscheidung.
7. Die Injektion von Pankreozymin nach vorhergehender Hemmung mit Glukagon in unterschiedlicher Dosierung führt zu einer Zunahme der Magnesiumkonzentration bei höheren Glukagondosen. Die Summe der Calcium- und Magnesiumkonzentrationen bleibt konstant.

4. D i s k u s s i o n

4.1. Die Calciumkonzentration im Pankreassaft

Lange Zeit hatten Untersuchungen der Elektrolytausscheidung des Pankreas sich auf die Frage des "Permeabilität" des Pankreas für verschiedene Elektrolyte beschränkt. Da im allgemeinen im Pankreassaft niedrigere Konzentrationen als im Serum gefunden wurden, schloss man, dass das Pankreas für Calcium relativ impermeabel ist (Johnston und Ball 1930). Auch in der neuesten Literatur (Case 1973) wird die niedrige Calciumkonzentration der Gastro-intestinalen Sekrete als Besonderheit der gastrointestinalen Sekretion hingestellt. Es gibt jedoch auch widersprechende Befunde. So wurden von Agren (1935) bei der Katze und von Hershkovitz (1965) beim Hund Calciumkonzentrationen festgestellt, die über dem Serumspiegel lagen. Es liess sich aber keine feste Beziehung zwischen Serum- und Saftkonzentrationen sichern, wie es für andere Elektrolyte gezeigt werden konnte: Kalium und Natrium werden in Höhe der Serumkonzentrationen ausgeschieden. Es liess sich aber zeigen, dass Calcium ähnlich wie Protein die höchsten Werte bei niedrigen Sekretionsraten aufweist. Es verhält sich damit umgekehrt wie das Bikarbonat, das mit steigender Sekretionsrate bis zu einer maximalen Konzentration ansteigt. Zimmermann et al. (1967) postulierten auf Grund dieser Beobachtung, dass Calcium zusammen mit der Enzymfraktion im Pankreassaft ausgeschieden wird.

Die vorliegende Untersuchung konnte den stochastischen Zusammenhang zwischen Protein- und Calciumkonzentration beweisen. Es müssen zwei verschiedene Fraktionen für das Calcium im Pankreassaft angenommen werden: Der grössere Anteil ist durch Pankreozymin stimulierbar und steht in direkter Korrelation zum Eiweißgehalt. Für die zweite Fraktion, die unabhängig von Protein sezerniert wird, ergibt sich ein Wert von 0,5 mval/l. Es lassen sich durch dieses Ergebnis die unterschiedlichen Angaben für die Calcium-Konzentrationen im Pankreassaft erklären, da der umgekehrte Effekt von Pankreozymin und Sekretin auf die

Pankreassekretion nicht ausreichend berücksichtigt wurde: Während endogenes und exogenes Pankreozymin zu einer Erhöhung der Calciumkonzentration- und Ausscheidung führen, führt eine Erhöhung der Sekretionsrate durch Sekretion zwar zu einer Erhöhung der Ausscheidung, aber zu einer Abnahme der Konzentration von Calcium. Da entsprechendes auch für die Enzyme gilt, sollte in allen Fällen, wo die sekretorische Kapazität des Pankreas gemessen werden soll und das Volumen bestimmt werden kann, der Angabe der Konzentration der der Ausscheidung den Vorzug gegeben werden.

4.2. Formen des Calciums im Pankreassaft

Moore und Makhlof (1968) haben für das Calcium im Magensaft eine Vier-Komponenten Theorie aufgestellt. Diese vier Komponenten sind:

1. Ionisiertes Calcium aus dem Interstitium
2. lösliche, diffusible Calciumkomplexe
3. an Albumin gebundenes Calcium
4. sezerniertes, an Pepsin gebundenes Calcium

Eine Analogie für das Pankreas lässt sich leicht herstellen. Dabei würden die beiden ersten Fraktionen dem unabhängig vom Pankreozymin-Stimulus sezernierten Calcium entsprechen, Fraktion 4 dem an das Eiweiß gebundenen Anteil. Fraktion drei kann vernachlässigt werden, da der Anteil von Serumproteinen im Pankreassaft sehr gering ist (Clemente et al. 1971) Über komplexgebundenes Calcium (z.B. als Citrat oder Oxalat) liegen meines Wissens keine Untersuchungen vor. Das ionisierte Calcium im Pankreassaft wurde erstmals 1961 von Mc Pherson et al. mit der Froschherzmethode von MacLean und Hastings (1935) bestimmt. Sie fanden, dass der Anteil des ionisierten Calciums im Pankreassaft stets geringer als im Serum war und bei erhöhtem Sekretionsvolumen abfiel. Durch Calciuminfusionen wurde der ionisierte Anteil nicht erhöht.

Neuere Untersuchungen von Moore et al. (1971) mit ionensensitiven Elektroden ergaben für Calcium-Ionen im Pankreassaft folgende Werte (Gesamt-Calcium in Klammern):

Basal: 0,8 - 2,4 (2,0 - 6,8) mval/l
Sekretin-stimuliert: 0,15 (0,4 - 0,6) mval/l

Weder Pankreozymininjektionen noch Erhöhung des Serumcalciums durch Infusion von Calcium-Glukonat konnten den geringen Anteil des ionisierten Calciums erhöhen. Sie folgerten daraus, dass Calcium zusammen mit Enzymprotein ausgeschieden wird, wie es schon vorher von Horn et al. (1967) und Zimmermann et al. (1967) vermutet worden war.

4.3. Die Eiweißbindung von Calcium

Moore und Makhlof (1968) fanden 8 - 14 Moleküle Calcium pro Pepsinmolekül entsprechend 0,6 - 1,0 μ val Calcium pro mg Pepsin. Bei einem Molekulargewicht der Amylase von 50 000 (Fischer und Stein 1960) würde die gefundene Korrelation von 0,1 μ val Calcium pro mg Protein 2,5 Molekülen Calcium pro Amylasemolekül entsprechen. Dies wäre eine durchaus mögliche Grösse, zumal von Hsiu et al. gezeigt wurde, dass mindestens ein Mol Calcium pro Mol Amylase zur vollen enzymatischen Aktivität nötig ist.

Schramm (1971) konnte zeigen, dass in der wie das Pankreas serösen Parotis der grösste Teil des intrazellulären Calciums in den Zymogengranula lokalisiert ist und gemeinsam mit dem sezernierten Protein ausgeschleust wird. Wallach und Schramm (1971) vermuten, dass das Calcium während der Bildung des Proteins an den Granula gebunden wird.

Die Vorstellung, dass ein wesentlicher Teil des Calciums an Enzymprotein gebunden ausgeschieden wird, erscheint nach diesen Untersuchungen gerechtfertigt und steht auch in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Es entspräche danach die durch Pankreozymin stimulierbare Calciumfraktion dem proteingebundenen Calcium, das von der Azinuszelle sezerniert wird, während der unabhängig vom Protein sezernierte Anteil zusammen mit dem bikarbonathaltigen Speichel aus den Isthmusepithelien kommt oder durch Diffusion aus den Interstitien entsprechend dem Konzentrationsgefälle einströmt.

Die bei der chronisch calcifizierenden Pankreatitis (Goebell et al. 1970) auftretenden hohen Calciumkonzentration bei erniedrigtem Enzymgehalt lassen sich mit dieser Vorstellung nicht in Übereinstimmung bringen. Es müssen daher noch andere Modelle in Erwägung gezogen werden bzw. für die unter pathologischen Bedingungen auftretenden Calcium-Konzentrationen besonderer Mechanismen angenommen werden.

4.4. Die Bedeutung von Calcium für die Pankreassekretion

Die Enzymsekretion des Pankreas ist an die Anwesenheit von extrazellulärem Calcium gebunden. Das konnten Versuche von Hokin (1966) am Taubenpankreas und Case und Clausen (1971) am Katzenpankreas bei in-vitro-Versuchen zeigen. Gleiche Befunde an Parotis und Submandibularis erhoben (Douglas und Poisner 1963, Schramm 1971).

In vivo stimuliert Calcium die Enzymsekretion beim Menschen (Goebell et al. 1972), eine durch EDTA hervorgerufene Hypocalcämie wirkt hemmend (Hotz 1972).

Die Untersuchungen von Case und Clausen (1971) führten zu dem überraschenden Ergebnis, dass ein calciumfreies Inkubationsmedium zwar die durch Pankreozymin auslösbare Enzymsekretion verhindert, nicht aber die begleitende Calciumausschüttung. Es muß daher angenommen werden, dass eine von der Enzymsekretion unabhängige Calciumausscheidung durch Pankreozymin hervorgerufen werden kann, über deren Grösse diese Experimente allerdings nichts aussagen, ebensowenig wie über die Art der Ausscheidung. Es könnte sich sowohl um eine Sekretion wie auch um eine Diffusion durch die äussere Zellmembran handeln, die durch den Sekretionsreiz ermöglicht wird.

Veränderungen der Membraneigenschaften scheinen wesentlich für Sekretion des Pankreas zu sein. Nach Jamieson und Palade (1971) ist der Angriffspunkt von Sekretogoga die energieabhängige (Babad 1967) Verschmelzung von Zymogengranula mit dem Azinulumen. Nach Rasmussen (1970) stellt sich der Ausscheidungsmechanismus wie folgt dar:

Der Stimulus führt zu einer Aktivierung der Adenylcyklase mit

entsprechender Erhöhung der intrazellulären Konzentration von cyklischen Adenosin-3', 5'-monophosphat. Dieser intrazelluläre Messenger aktiviert eine Proteinkinase, die eins oder mehrere Elemente eines mikrotubulären kontraktilen Systems verbindet, das die Zellmembran mit den Zymogenvesikeln verbindet. Dieses System wird durch Calcium aktiviert, dessen Einstrom entweder direkt oder indirekt durch den Stimulus hervorgerufen wird. Bei der Verschmelzung der Vesikelmembran mit der Zellmembran ist eine erneute Mitwirkung von Calcium denkbar (Abb. 12). Fehlt Calcium im Extrazellulärraum, wird es durch Magnesium ersetzt oder wird der Calciumeinstrom durch Tetracain gehemmt (Dreisbach 1961), wird die Enzymsekretion verhindert.

Die durch Glukagon hervorgerufene Hemmung der Enzyausscheidung ist durch diese Vorstellungen nicht hinreichend erklärt, da eine Veränderung des Serumcalciums bei der verwendeten Dosierung nicht beobachtet wurde.

4.5. Cyklisches AMP und Pankreassekretion

Dyck et al. (1969) diskutierten einen Angriff von Glukagon am System Adenylcyclase-cAMP als Ursache der hemmenden Wirkung von Glukagon, während Kaess und Schlierf (1968) eine fördernde Wirkung erwarteten, aber experimentell nicht bestätigen konnten. Diese Erwartung stützte sich auf Befunde, die eine Erhöhung der Aktivität der Adenylcyclase an verschiedenen Organen demonstrieren (Übersicht bei Kühnau 1970), z.B. Fettzellen, Herzmuskel, Inselzellen. Da verschiedene Untersuchungen gezeigt haben, dass Dibutyryl-c-AMP die Amylasesekretion fördert, lag es nahe, eine fördernde Wirkung zu erwarten. So konnte Schramm (1971) mit Dibutyryl-c-AMP die Amylasesekretion der Parotis steigern, Kulka und Sternlicht (1968) demonstrierten dies am Mäusepankreas, während Case und Scratcherd (1971) am Katzenpankreas keine Wirkung auf die Enzymsekretion sahen, die Elektrolytausscheidung dagegen stimuliert wurde.

Es ist daher nicht möglich, die hemmende Wirkung von Glukagon über einen direkten Angriff auf das Adenylcyclasesystem des Pankreas zu erklären. Da jedoch Glukagon zu den Hormonen gehört,

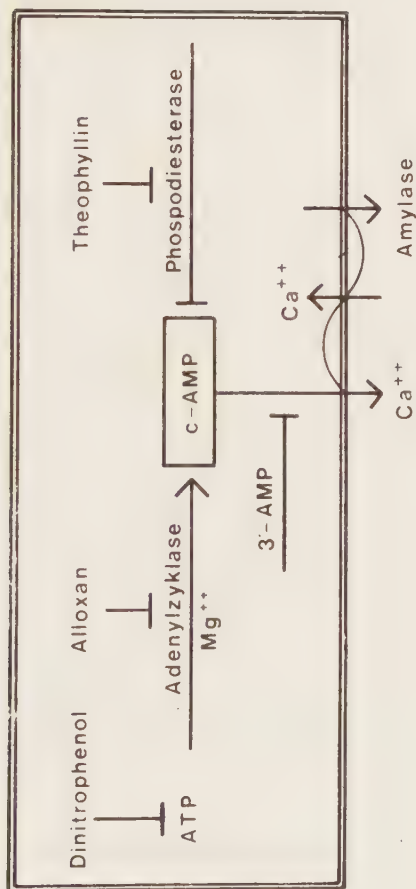


Abb. 12.

Schema des Wirkungsmechanismus von cyclischem Adenosinmonophosphat (Erläuterung in Text)

die über c-AMP in der Schilddrüse einen Einfluss auf den Calciumstoffwechsel ausüben, bietet sich hier eine Deutungsmöglichkeit.

So verursacht Glukagon eine Hypocalcaemie bei Mensch (Avioli 1968), Hund (Paloyan 1967), Kaninchen (Paloyan 1967) und Ratte (Morain 1968). Dieser Effekt ist nicht von der vermehrten Calciumausscheidung durch die Niere abhängig, ist aber an das Vorhandensein der Schilddrüse gebunden (Avioli et al. 1969, Aliopoulos et al. 1968). Es ist daher anzunehmen, dass Glukagon in der Schilddrüse Calcitonin freisetzt. Da nun die gezeigte Wirkung von Glukagon auf das exokrine Pankreas mit der von Calcitonin (Schmidt et al. 1971) identisch ist, kommen theoretisch die in Abb. 13 dargestellten Mechanismen für eine Hemmung des exokrinen Pankreas in Frage.

Da weder in der vorliegenden Untersuchung noch von anderen Autoren Änderungen des Serumcalciumspiegels nach sekretionshemmenden Dosen von Glukagon und Calcitonin (Schmidt et al 1971, Hotz 1971) gefunden wurden, erscheint es wahrscheinlich, dass die hemmende Wirkung von Glukagon auf das Pankreas auf der Freisetzung von Calcitonin beruht. In diese Vorstellung fügt sich auch die oben diskutierte fördernde Wirkung von Glukagon auf die Synthese von c-AMP ein, da für die Calcitonininkretion eine Aktivierung der Adenylcyclase in den C-Zellen der Schilddrüse angenommen wird (Care und Gitelman 1968). Die Wirkung des Calcitonins könnte dann analog zum Knochen, wo Calcitonin die Calciumresorption hemmt, in einer Hemmung der Calciumpermeabilität der Zelle liegen.

Diese Hypothese erklärt die gleichartige Wirkung von Hypocalcämie, Glukagon und Calcitonin auf das exokrine Pankreas, die sich in allen Fällen in einer Hemmung der Enzym- und Calciumsekretion äußert und nur geringe Wirkung auf die Flüssigkeits- und Elektrolytsekretion zeigt.

4.6. Magnesiumkonzentration im Duodenalsaft

Die Untersuchungen über die Ausscheidung von Magnesium im Duodenalsaft sind ungleich spärlicher als die über Calcium. Da un-

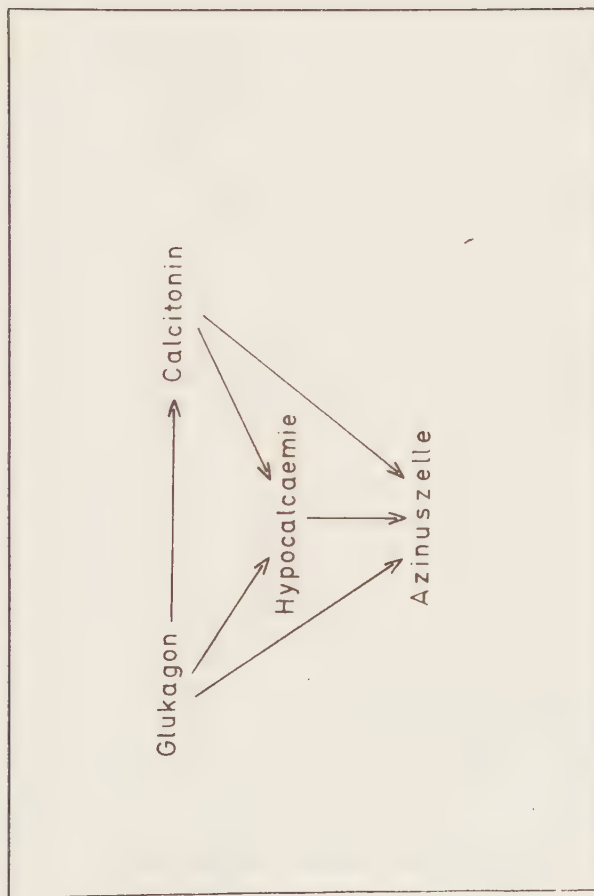


Abb. 13

Schema der hypothetischen Angriffsmöglichkeiten von Glukagpn an der Azinuszelle

sere Versuche eine strikte Parallelität zwischen Calcium- und Magnesiumkonzentrationen im Pankreassaft ergeben haben, in guter Übereinstimmung mit den Befunden von Nimmo et al. (1970) und Müller-Reinhardt (1971), ist ein ähnlicher Ausscheidungsmechanismus anzunehmen. Eine Diskongruenz, die vorerst nicht erklärt werden kann, zeigt sich nach Injektion von Pankreozymin bei vorangegangener Glukagoninfusion (siehe 3.5.). Sie findet eine Entsprechung bei Patienten mit BPT und gestörter Pankreasfunktion, die nach Pankreozyminreiz eine Verminderung der Calciumausscheidung bei gesteigerter Magnesiumausscheidung zeigen (Müller-Reinhardt 1971).

5. Tabellen

<u>Tab. 1</u>	S. 19
Korrelation von Calcium und Protein im Pankreassaft des Hundes	
<u>Tab. 2</u>	S. 22
Wirkung von Glukagon auf die Sekretin- stimulierte Pankreassekretion des Menschen	
<u>Tab. 3</u>	S. 23
Wirkung von Glukagon auf eine nachfolgende Pankreozymininjektion	
<u>Tab. 4</u>	S. 36
Gruppe 1	
Mittelwerte der Ausscheidung in den 15-min Fraktionen ($\bar{x} \pm s$)	
Stimulation: Sekretin Hemmung: Glukagon 1 mg	
<u>Tab. 5</u>	
Gruppe 2	S. 37
Mittelwerte der Ausscheidung ($\bar{x} \pm s$)	
Stim.: Sekretin Hemmung: Glukagon 5 mg	
<u>Tab. 6</u>	S. 38
Gruppe 3	
Mittelwerte der Ausscheidung ($\bar{x} \pm s$)	
Stim.: Sekretin und Pankreozymin	
Hemmung: Glukagon 5 mg terminal	
<u>Tab. 7</u>	S. 39
Gruppe 4	
Mittelwerte der Ausscheidung ($\bar{x} \pm s$)	
Stim.: Sekretin und Pankreozymin	
Hemmung: Glukagon 5 mg initial	
<u>Tab. 8</u>	S. 40
Gruppe 1 - 4	
Gruppenmittelwerte ($\bar{\bar{x}} \pm s$)	
<u>Tab. 9 - 13</u>	S. 41
Elektrolyt- und Enzymkonzentrationen im Hundepankreassaft. Die Fraktionen entsprechen einer 5-10 min dauernden Sammelperiode.	

Gruppe 1

Fraktion	Volümet	Bicarbonat	Trypsin	Chymotrypsin	Lipase	Calcium	Magnesium
1	3,12 ± 0,15	140 ± 56	112,7 (2,05182 ± 0,1724)	107,9 (2,03344 ± 0,17798)	2223 (3,34701 ± 0,29197)	2,56 (0,41192 ± 0,10825)	1,15 (0,05105 ± 0,10412)
2	5,54 ± 0,15	344 ± 110	55 (1,01502 ± 0,1326)	75,68 (1,57432 ± 0,17213)	1050 (3,21111 ± 0,30357)	2,50 (0,35531 ± 0,05113)	0,06 (0,01875-1 ± 0,18275)
3	4,50 ± 0,10	477 ± 123	78,7 (1,09533 ± 0,09346)	85,31 (1,95122 ± 0,22757)	2254 (3,35309 ± 0,35207)	2,16 (0,33312 ± 0,33202)	0,33 (0,07035-1 ± 0,14377)
4	5,24 ± 0,10	530 ± 173	107,5 (2,03261 ± 0,15620)	94,4 (1,97545 ± 0,17595)	2317 (3,36443 ± 0,19957)	2,03 (0,36702 ± 0,283)	1,22 (0,08730 ± 0,16828)
5	5,06 ± 0,10	412 ± 120	130,9 (2,11709 ± 0,20910)	91,82 (1,96196 ± 0,25443)	1531 (3,20328 ± 0,35074)	3,28 (0,51277 ± 0,1301)	1,40 (0,14457 ± 0,15192)
6	4,02 ± 0,06	474 ± 110	44,8 (1,05342 ± 0,47723)	31,19 (1,43394 ± 0,33113)	465,4 (2,00705 ± 0,08113)	2,53 (0,42042 ± 0,39155)	0,95 (0,0302-1 ± 0,42452)
7	4,54 ± 0,10	432 ± 171	40,9 (1,05370 ± 0,24009)	31,47 (1,40930 ± 0,35210)	1279 (3,10568 ± 0,45044)	2,42 (0,38302 ± 0,23906)	0,77 (0,00612-1 ± 0,34244)
8	5,10 ± 0,11	502 ± 111	73,4 (1,05547 ± 0,30275)	35,06 (1,35130 ± 0,34071)	845 (2,11715 ± 0,32303)	3,02 (0,41023 ± 0,27395)	1,28 (0,11600 ± 0,24513)
9	9,24 ± 0,05	498 ± 231	496 (2,03590 ± 0,28400)	241,5 (2,30305 ± 0,37060)	5272 (3,72157 ± 0,17300)	20,44 (1,31077 ± 0,34291)	6,12 (0,78745 ± 0,26103)

Tab. 4

Gruppe 1

Sekretin-Infusion (1 E/kg.h) während Fraktion 1-9, Glukagon-Infusion (1 mg/ 75 kg) während Fraktion 5-8, Pankreozymin-Injektion 11 E/kg) nach Fraktion 8.

Fraktionsdauer jeweils 15 min. Die Angaben sind die Mittelwerte der Ausscheidung/min ± Standardabweichung in ml/min, mval/min und U/min (siehe Tab. 8)

Fraktion	Volumen	Glukagon	Insulin	Glukagon	Insulin	Glukagon
1	3,3 ± 0,4	244 ± 22	80,15 (1,5038) ± 0,2350	30,22 (3,2044) ± 0,1347	2,90 (1,40) ± 0,10	1,14 (1,14) ± 0,00
2	2,3 ± 0,5	374 ± 75	42,44 (1,5006) ± 0,1000	32,72 (3,2057) ± 0,0000	1,11 (1,11) ± 0,00	0,72 (0,72) ± 0,00
3	1,7 ± 0,1	200 ± 20	62,35 (1,5007) ± 0,3000	23,20 (2,3000) ± 0,0000	4,30 (4,30) ± 0,00	1,10 (1,10) ± 0,00
4	2,0 ± 0,1	526 ± 53	63,18 (1,5032) ± 0,2500	41,39 (4,1000) ± 0,3000	4,39 (4,39) ± 0,00	1,11 (1,11) ± 0,00
5	3,0 ± 0,5	328 ± 70	87,4 (1,9415) ± 0,2150	28,18 (2,8000) ± 0,3750	3,96 (3,96) ± 0,00	1,50 (1,50) ± 0,00
6	5,0 ± 1,2	435 ± 115	53,5 (1,2815) ± 0,2000	15,9 (1,2836) ± 0,3500	2,09 (2,09) ± 0,1100	0,95 (0,95) ± 0,1700
7	5,0 ± 1,9	468 ± 109	59,9 (1,7747) ± 0,5250	16,0 (1,3063) ± 0,5500	2,51 (2,51) ± 0,00	1,10 (1,10) ± 0,00
8	5,5 ± 0,5	470 ± 101	75,6 (1,8797) ± 0,2322	15,7 (1,1962) ± 0,2700	2,52 (2,52) ± 0,00	1,12 (1,12) ± 0,00
9	7,6 ± 1,6	542 ± 263	387 (2,5879) ± 0,2000	107,5 (2,0512) ± 0,2000	8,63 (8,63) ± 0,00	13,04 (13,04) ± 0,00

Tab. 5

Gruppe 2

Sekretin-Infusion (1 E/kg.h) während Fraktion 1-9, Glukagon-Infusion während Fraktion 5-8 (5 mg/75 kg), Pankreozym-Injektion (1 E/kg) nach Fraktion 8.
(Legende siehe Tab. 4)

Gruppe 3

Fraktion	Volumen	Bicarbonat	Trypsin	Chymotrypsin	Lipase	Calcium	Magnesium
1	5,77 ±0,57	331 ±95	521 (2,11074) ±0,16422	190 (2,27900) ±0,24867	5110 (3,705/5) ±0,47349	2,72 (0,945) ±0,4102	5,21 (0,1102) ±0,10601
2	0,42 ±0,25	465 ±151	830 (2,91917) ±0,11004	176 (2,24744) ±0,25924	4200 (3,02283) ±0,38998	6,79 (0,8242) ±0,24562	8,69 (0,9291) ±0,10441
3	6,93 ±1,56	440 ±147	401 (2,68750) ±0,15257	176 (2,23204) ±0,22823	4100 (3,152128) ±0,56085	4,85 (0,8635) ±0,2302	4,26 (0,10516) ±0,10092
4	7,44 ±2,13	405 ±90	504 (2,70213) ±0,12621	180 (2,25445) ±0,31695	3510 (3,54477) ±0,59203	4,50 (0,33432) ±0,10772	3,08 (0,4403) ±0,0015
5	5,03 ±1,13	535 ±181	296 (2,47178) ±0,07913	108 (2,03333) ±0,13055	2370 (3,37450) ±0,31432	5,81 (0,76425) ±0,20210	3,13 (0,40515) ±0,14707
6	1,03 ±1,42	662 ±126	202 (2,30531) ±0,20342	65 (1,81284) ±0,20712	2900 (3,46279) ±0,39439	3,84 (0,59422) ±0,13312	1,45 (0,20415) ±0,30554
7	7,83 ±2,68	682 ±81	221 (2,34304) ±0,16501	67 (1,82727) ±0,26474	1465 (3,17555) ±0,27734	4,79 (0,6050) ±0,3020	2,06 (0,3142) ±0,1011
8	7,05 ±1,84	465 ±150	202 (2,30473) ±0,16920	60 (1,77483) ±0,27842	2135 (3,22908) ±0,52260	6,50 (0,81342) ±0,12974	2,30 (0,1444) ±0,10300

Tab. 6

Gruppe 3

Sekretin-Pankreozymin-Infusion (je 1 E/kg.h) während Fraktion 1-8, Glukagon-Infusion (5 mg/75 kg.h) während Fraktion 5-8.
(Legende siehe Tab. 4)

Fraktion	Volfrum	Bienbonat	Trypsin	Cymotrypsin	Lipase	Calcium	Magnesium
1	4,34 ±0,15	421 ±55	165,8 (2,21965 ±0,11508)	39,03 (1,31105 ±0,04435)	1422 (3,17593 ±0,04411)	3,74 (0,71070 ±0,02022)	2,46 (0,59051 ±0,02107)
2	3,37 ±0,74	574 ±34	133,7 (2,12613 ±0,13490)	45 (1,06300 ±0,11523)	1102 (3,04215 ±0,03303)	2,10 (0,37302 ±0,02115)	1,53 (0,33334 ±0,01023)
3	5,20 ±1,47	520 ±145	133,0 (2,12399 ±0,25773)	37,3 (1,37552 ±0,11327)	933,1 (2,34595 ±0,04362)	3,87 (0,52464 ±0,02111)	1,07 (0,21002 ±0,03054)
4	3,34 ±0,11	637 ±57	157,2 (2,19665 ±0,22029)	30,5 (0,74501 ±0,04190)	910 (2,09373 ±0,04250)	4,27 (0,91212 ±0,04605)	1,94 (0,40553 ±0,02734)
5	7,42 ±0,85	790 ±113	353,8 (2,54869 ±0,20159)	108,6 (2,03316 ±0,036297)	2213 (3,34493 ±0,03432)	7,20 (0,83235 ±0,24345)	2,05 (0,56335 ±0,26610)
6	2,12 ±1,44	677 ±184	434,2 (2,05729 ±0,23974)	147,4 (2,16659 ±0,03940)	2330 (3,42015 ±0,036727)	8,26 (0,91721 ±0,25006)	3,87 (0,70894 ±0,21243)
7	3,44 ±1,75	516 ±192	368,0 (2,3673 ±0,21764)	123,6 (2,10928 ±0,031306)	2805 (3,44614 ±0,031370)	5,31 (0,72523 ±0,19413)	3,45 (0,52012 ±0,21741)
8	6,72 ±1,81	522 ±256	432,8 (2,63634 ±0,30012)	151,0 (2,17930 ±0,02531)	2420 (3,47561 ±0,03311)	5,53 (0,74246 ±0,10337)	3,50 (0,54432 ±0,23032)

Tab. 7

Gruppe 4

Sekretin-Pankreozymin-Infusion (je 1 E/kg.h) während Fraktion 1-8, Glukagon-Infusion (5 mg/75 kg.h) während Fraktion 1-4.
Legende siehe Tab. 4

Mittelwerte der Ausscheidung/min

	Volumen (ml/min)	Bikarbonat (pval/min)	Trinein (U/min)	Chymotrypsin (U/min)	Linase (U/min)	Calcium (pval/min)
<u>Gruppe 1</u>						
Sekretin	4,5	453	82	85	1760	0,9
Sekr. + Glukagon 1 mg	4,8	483	55 ⁺	32 ⁺⁺	710 ⁺⁺	1,0
<u>Gruppe 2</u>						
Sekretin	5,4	432	68	37	2440	1,1
Sekr. + Glukagon 5 mg	5,1	463	62 ⁺	17 ⁺⁺	670 ⁺⁺	1,05
<u>Gruppe 3</u>						
Sekretin + CCK	7,7	461	566	176	3950	4,0
Sekr. + CCK + Gluk. 5 mg	7,3	603 ⁺	208 ⁺⁺	64 ⁺⁺	2100 ⁺	1,9 ⁺⁺
<u>Gruppe 4</u>						
Sekr. + CCK + Gluk. 5 mg	5,9	597	170 ⁺⁺	38 ⁺⁺	200 ⁺⁺	1,7 ⁺⁺
Sekretin + CCK	6,7	571	417	140	2800	4,0
						6,1

Tab. 8

Mittelwerte der Ausscheidung in den Gruppen 1-4

Verglichen wurden jeweils die Fraktionen 2-4 und 6-8. Die mit ⁺ bezeichneten Werte unterscheiden sich signifikant, die mit ⁺⁺ bezeichneten Werte hochsignifikant von der Vergleichsperiode ohne Glukagon

Versuch 2-1

	Volumen (ml/min)	Protein (mg/ml)	Trypsin (U/ml)	Lipase (U/ml)	Kalium (mval/l)	Natrium (mval/l)	Calcium (mval/l)
1	2,2	5,3	17	1200	4,05	167	
2	2,1	0,6	2,2	40	4,0	166	0,7
3	2	0,3	6	40	3,9	164	0,7
4	1,1	0,1	2,1	88	3,6	162	0,6
5	0,3	2,8	3	500			
6	0,9	2,9	3,8	275	4,0	161	0,7
7	1,4	0,4	0,6	125	3,9	164	0,7
8	1,6	29,3	240	4150	4,0	163	2,35
9	1,6	14,1	113	940	3,2	169	2,2
10	1,9	4,8	21	900	2,7	166	1,1
11	1,7	2,0	3	580	2,8	164	1,1
12	1,6	1,0	6	310	3,6	167	1,2
13	1,7	0,7	7	21	4,1	167	0,3
14	1,4	0,4	3	56	3,9	163	0,4
15	1,3	0,3	3	38	4,1	167	1,9
16	1,3	18,3	342	1780	3,0	167	1,9
17	1,5	5,3	60	1620	3,6	166	1,2
18	1,7	2,5	5	210	4,2	164	1,0
19	1,5	0,8	4	13	4,4	162	1,0
20	1,8				4,0	163	0,8
21	1,8	0,3	2	5	4,3	161	0,8
22	1,8						
23	1,8	0,5	2	20	4,2	161	0,8
24							

Versuch 2-2

	Volumen (ml/min)	Protein (mg/ml)	Trypsin (U/ml)	Lipase (U/ml)	Kalium (mval/l)	Natrium (mval/l)	Calcium (mval/l)
1	0,35	27,5	288	6250	3,64		2,8
2	1,0	1,72	2,4	275	3,63	163	1,15
3	1,4	0,82	1,8	119	3,65	166	0,75
4	1,5	0,6	2,4	100	3,56	167	0,79
5	1,3	0,56	2,5	125	3,53	166	0,75
6	1,65	0,75	2,9	100	3,64	166	0,75
7	1,75	17,4	576	5470	4,65	158	2,13
8	2,25	22,4	472	7500	3,14	177	3,3
9	1,5	18,4	295	4000	2,65	166	2,47
10	1,9	8,8	87	1310	2,56	166	1,97
11	1,8	3,44	53	650	2,7	166	1,55
12	1,7	1,73	18	532	2,26	168	1,36
13	1,6	0,77	6	176	3,60	166	1,26
14	1,8	0,74	5	162	3,50	162	1,57
15	0,23	1,29	12	269	4,36	155	1,38
16	0,35	1,66	32	312	3,55	178	1,22
17	1,3	0,7	2,4	40	3,59	167	0,97
18	1,5	0,89	9	438	4,27	164	0,52
19	2,3	19,1	562	5470	3,52	164	3,57
20	2,0	14,0	259	2030	3,46	165	2,47
21	1,5	7,4	70	430	3,4	167	1,67
22	1,6	2,1	40	230	3,04	166	1,15
23	1,5	5,3	52	690	4,39	143	
24	1,75	11,2	281	2980	2,96	155	1,4
25	1,4	8,1	85	1560	2,46	124	1,68
26	2,0	2,48	77	1060	3,54	146	1,32
27	2,4	2,36	13	312		166	1,28
28	2,2	0,9	13	212			
29	2,0	1,35	12	150			

Versuch 2-3

	Volumen (ml/min)	Protein (mg/ml)	Lipase (U/min)	Calcium (nval/min)
1	0,05	50	1060	
2	0,9	4,5	690	1,2
3	1,25	1,2	81	0,8
4	1,35	1,3	162	0,8
5	1,3	1,3	162	0,8
6	1	29,2	386	2,3
7	0,74		6850	
8	0,75	24,8	3940	4,3
9	1,4	11,6	2850	2,1
10	1,75	6,9	1250	1,4
11	1,7	2,7	310	1,5
12	1,7	17,4	2250	2,56
13	1,4	28,6	5550	4,3
14	1,1	22,1	3270	2,6
15		9,2	770	1,8
16	2,1	5,8	560	1,3
17	2	2,7	167	1,2
18	1,9	1,1	130	0,6
19	2,2	0,84	70	1,1
20	2,2	16,9	1350	2,1
21	2,4	26,4	1820	3,0
22	2,3	18,4	1200	2,3
23	2,3		1140	1,5
24	2,4	3,3		1,2
25	2,5	1,5	140	0,8
26	2,4	1,0	50	0,9
27	2,4	0,8	90	0,8
28	2,3	0,8	40	0,7
29		0,8	120	1,3

Versuch 2-6

	<u>Volumen</u> <u>(ml/min)</u>	<u>Protein</u> <u>(mg/ml)</u>	<u>Calcium</u> <u>(mval/l)</u>	<u>Kalium</u> <u>(mval/l)</u>	<u>Natrium</u> <u>(mval/l)</u>
1	0,07	2,5	5	3,2	143
2	0,4	1,5	1,45	3,4	154
3	0,5	1,46	1,3	3,4	155
4	0,75	1,4	1,2	3,4	156
5	0,85	1,2	1,1	3,4	158
6	1,5	0,6	0,8	3,3	158
7	1,9	0,5	0,8	3,3	159
8	1,6	0,5	0,8	3,4	158
9	1,8	0,5	0,8	3,3	157
10	2,0	0,5	0,8	3,4	159
11	1,9	0,5	0,8	3,5	158
12	1,7	0,5	0,8	3,4	157
13	2,0	0,4	0,8	3,6	160
14	2,1	0,5	0,8	3,5	159
15	1,8	0,5	0,7	3,5	161
16	1,9	0,5	0,7	3,4	154
17	2,3	0,5	0,7	3,3	

Versuch 2-1

	<u>Volumen</u> (ml/min)	<u>Protein</u> (mg/ml)	<u>Lipase</u> (U/ml)	<u>Calcium</u> (mval/l)
1	0,06			
2	0,92	2,69	1,75	0,5
3	0,73	2,69	1,55	0,6
4	1,45	3,19	1,3	0,48
5	1,45	3,74	1,24	0,6
6	2,08	20,3	1,55	1,6
7	1,95	4,4	1,36	0,55
8	1,12	3,4	1,65	0,6
9	1,3	3,5	1,40	0,6
10	1,25	3,2	1,36	0,5
11	1,42	19,6	1,65	1,2
12	1,56	6,0	1,36	0,65
13	1,12	3,9	1,7	0,6
14	0,9	3,3	1,75	0,55
15	0,9	3,2	1,25	0,48
16	1,0	3,2	1,24	0,59
17	2,0	26,0	1,9	2,2
18	2,4	10,3	1,24	0,98
19	0,6	4,4	1,35	1,15
20	0,6	3,1	1,7	0,9
21	0,4	2,0	1,5	0,53
22	0,8	2,5	1,35	0,49
23	1,3	3,2	1,4	0,63
24	1,8	15,3	1,56	1,8
25	1,1	7,7	1,9	0,85
26	1,7		1,05	0,55
27	1,3	3,2	1,40	0,85
28	0,8	3,0	1,56	0,4

6. Literaturverzeichnis

- Ågren, G.: Die Calciumausscheidung des Pankreas.
Biochem. Zeitschr. 281, 358-362 (1935)
- Amsterdam, A., I. Ohad, M. Schramm: Dynamic changes in the ultrastructure of the acinar cell of the rat parotid gland during the secretory cycle.
J. Cell Biol. 41, 753-773 (1969).
- Aliapoulios, M.A., W.D. Morain: Comparative hypocalcemic and hypophosphatemic effects of glucagon and thyrocalcitonin.
Surgical Forum 19, 379-380, 1968.
- Avioli, L.V., Birge, St.J., S. Scott, W. Shieber: Role of the thyroid gland during glucagon-induced hypocalcemia in the dog.
Am. J. Physiol. 216, 939-945 (1969)
- Avioli, L.V., S.J. Birge, H. Kanagawa, W. Shieber: Glucagon-induced hypocalcemia in man.
J. clin. Invest. 47, , 1968.
- Babad, H., R. Ben-Zvi, A. Bdolah, M. Schramm: The mechanism of enzyme secretion by the cell
4. Effect of inducers, substrates and inhibitors on amylase secretion by rat parotid slices.
Europ. J. Biochem. 1, 96-101, 1967.
- Ball, E.C.: The composition of pancreatic juice and blood serum as influenced by the infection of acid and base.
J. Biol. Chem. 86, 433-448 (1936).
- Bastian, R.V.: Die exokrine Pankreasfunktion bei chronischem Alkoholabusus.
Inaugural-Diss. Marburg 1970
- Beisenherz, G., H.J. Boltze, Th. Bucher, R. Czok, K.H. Garbade, E. Meyer-Arendt, G. Pfeleiderer: Diphosphofructose-Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase und Pyruvatkinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang.
Z.f. Naturforschung 8 b, 555-577 (1953)
- Benzoana, G., P. Desnuelle: Etude cinétique de l'action de la lipase pancréatique sur des triglycérides en émulsion. Essai d'une enzymologie en milieu hétérogène.
Biochim. Biophys. Acta 105, 121-136 (1965)

- Bode, Ch., Goebell, H., Stähler, E.: Zur Eliminierung von Trübungsfehlern bei der Eiweißbestimmung mit der Biuretmethode. Z. klin. Chem. u. Biochem. 6, 418-422 (1968)
- Case, R.H.: Calcium and gastrointestinal secretion. Digestion, im Druck
- Case, R.H., T. Clausen: Stimulus-secretion coupling in exocrine pancreas
II. Role of calcium ions. Gastrointestinal Hormones and other subjects, 5th Scand. Conf. on Gastroenterology, Aalborg 1971.
- Case, R.H., Scratcherd, T.: Stimulus-secretion coupling in exocrine pancreas
I. The role of adenyl cyclase. 5th Scand. Conf. on Gastroenterology, Aalborg 1971.
- Care, A.D., Gitelman, H.J.: The possible role of adenyl cyclase in thyrocalcitonin release. J. Endocrin. 41, XXI-XXII, 1968.
- Douglas, W.W., Poisner, A.M.: Importance of calcium for acetylcholine-evoked salivary secretion. Nature (Lond.) 196, 379-380 (1962).
- Clemente, F., T. Ribeiro, C. Figarella, H. Sarles: Proteines sériques dans la sécrétion pancréatique, in: European Pancreatic Club, V th Symposium, Abstracts, 9, 1971.
- Cope, O., Culver, P.J., Mixter, C.G., Nardi, G.L.: Pancreatitis, a diagnostic clue to hyperparathyroidism. Ann. Surg. 145, 857-863 (1957)
- Dost, F.H.: Grundlagen der Pharmakokinetik, 2. Aufl. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1968.
- Douglas, W.W., A.M. Poisner: The influence of calcium on the secretory response of the submaxillary gland to acetylcholine or the noradrenaline. J. Physiol. 165, 528-541, 1963.
- Dyck, W.P., J. Rudick, B. Hoexter, H.D. Janowitz: Influence of glucagon on pancreatic exocrine secretion. Gastroenterology 56, 531-532 (1969).
- Goebell, H., C. Bode, H.D. Horn: Einfluß von Sekretin und Pankreozymin auf die Calciumsekretion im menschlichen Duodenalsaft bei normaler und gestörter Pankreasfunktion. Klin. Wschr. 48, 1330-1339, 1970

- Goebell, H., C. Steffen, G. Baltzer, K.A. Schlott, C. Bode:
Stimulierung der Enzymsekretion im Pankreas
durch akute Hypercalcämie.
Dtsch. Med. Wschr. 97, 300-301, 1972
- Goebell, H., C. Steffen, C. Bode:
Stimulatory effect of pancreozymin-chole-
cystokinin on calcium secretion in pancreatic
juice of dogs.
Gut, 1972, 13, 477-482.
- Goebell, H., C. Steffen, C. Bode, K. Hupe:
Stimulierung der Calciumausscheidung im
Pankreassaft von Hunden durch Pankreozymin.
Klin. Wschr. 48, 755-757, 1970.
- Hammersten, E., G. Agren, H. Lagerlöf:
Acta med. scand. 92, 256, 1937
zit. nach. K.F. Sewing: Sekretin.
Z.f.Gastroenterologie 7, 450-456, 1969.
- Hansky, J.: Calcium content of duodenal juice.
Am.J.Dig.Dis 12, 725-733, 1967.
- Harper, A.A.: Hormonal control of pancreatic secretion,
in: Handbook of Physiology, Alimentary
canal, sect.D, Vol. II, Chapter 55, 969-995,
Washington 1967.
- Herskovic, R., K. Wakim, L. Bartholomew, J. Cain, J. Jones:
Relationship of Calcium in the serum to
that in the pancreatic secretion in normal
and hypercalcemic states.
Surgery 58 (3), 530-534 (1965).
- Hodes, M.E.: Carbon dioxide content (titrimetric),
in: K. Reiner, Standard methods of clinical
chemistry, Vol. I, 19-22, Acad. Press Inc.
New York 1953.
- Hokin, L.E.: Effects of calcium omission on acetylcholine-
stimulated amylase secretion and phospholipid
synthesis in pigeon pancreas in vitro.
Biochem. Biophys. Acta 115, 219-221, 1966.
- Horn, H.D., Goebell, H., C. Bode:
Primärer Hyperparathyreoidismus und exkreto-
rische Pankreasfunktion. II. Quantitative
Elektrolytausscheidung im Sekretin-Pankreo-
zymintest.
Verh. dtsch. Ges. Inn. Med. 73, 1098, 1967.
- Hotz, J., H. Minne, R. Ziegler:
Untersuchungen zu den Beziehungen zwischen
exkretorischer Pankreasfunktion und Calcium-
haushalt beim Menschen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78, 1420-1423,
1972
- Hummel, B.C.W.: A modified spectrophotometric determination
of chymotrypsin, trypsin and thrombin.
Can. J. Biochem. and Physiol. 37, 1393-1399,
1959.

- Jamieson, J.D., G.E. Palade: Intracellular transport of secretory proteins in the pancreas exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of Golgi complex, II. Transport of condensing vacuoles and zymogen granules. J. Cell. Biol. 34, 577-626, 1967, III. Dissociation of intracellular transport from protein synthesis, IV. Metabolic requirements. J. Cell. Biol. 39, 580-603, 1968
- Jarett, L., P.E. Lacy: Effect of glucagon on the acinar portion of the pancreas, Endocrinology 70, 867-873, 1962.
- Johnston, C.G., E.G. Ball: Variations in inorganic constituents of the pancreatic juice during constant drainage of the pancreatic ducts. J. Biol. Chem. 86, 643-652, 1930.
- Jorpes, J.E.: The isolation and chemistry of secretin and cholecystocinin. Gastroenterology 55, 157-164, 1968.
- Kaess, H., W. Brech, G. Schlierf: Der Einfluß von Glukagon auf die exokrine und endokrine Pankreasfunktion. Klin. Wochschr. 46, 1314-1315, 1968.
- Knight, M.J., J.R. Condon, R. Smith: Possible use of Glucagon in the treatment of pancreatitis. Brit. Med. J. 2, 440-442, 1971.
- Komarov, S., G. Langstroth, D. McRae: The secretion of crystalloids and protein material by the pancreas in response to secretin administration. Canad. J. Research 17 D, 113-123, 1939.
- Kühnau, J.: Physiologie und Biochemie der endokrinen Regulationen, in: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Band VIII/1, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1971.
- Kulka, R.G., E. Sternlicht: Enzyme secretion in mouse pancreas mediated by adenosine-3', 5'-cyclic phosphate and inhibited by adenosine-3'-phosphate. Proc. Nat. Ac. Sc. U.S. 61, 1123-1128, 1968.
- Lagerlöf, H., S.Y. Ek, A. Nyberg: Gastroenterology 43, 174-180, 1962.
- McDonald, B.K. und Kunitz, M: The effect of calcium and other ions on the autocatalytic formation of trypsin from trypsinogen. J. Gen. Physiol. 25, 53-73, 1941.

- McLean, F.C., A.B. Hastings: A biological method for the estimation of calcium ion concentration
J. biol. Chem. 107, 337-350, 1934.
- McPherson, R., W. Pace: Calcium excretion by the pancreas in hypercalcemia.
Surgical Forum 12, 372-374, 1961.
- Marchis-Houren, L. Sarda, P. Desnuelle:
Purification of Hog Pancreatic Lipase.
Arch. Biochem. Biophys. 83, 309-319 (1959)
- Moore, E.W., G.M. Makhlof: Calcium in normal human gastric juice.
Gastroenterology 55, 465-480, 1968.
- Necheles, H.: Effect of glucagon on external secretion of pancreas.
Am. J. Physiol. 191, 595-597 (1957).
- Paloyan, E., A.M. Lawrence, F.H. Straus, D. Paloyan, P.V. Harper, D. Cummings:
Alpha-cell hyperplasia in calcific pancreatitis asso-ciated with hyperparathyroidism.
JAMA 200 (9), 757-761 (1967).
- Paloyan, E., D. Paloyan, P.V. Harper:
Glucagon-induced hypocalcemia, Metabolism, 16, 35-39 (1967).
- Paloyan, D., E. Paloyan, R. Worobec, K. Ernst, E. Beininger, P.V. Harper:
Serum glucagon levels in experimental acute pancreatitis in the dog.
Surgical Forum 17, 348-349 (1966).
- Perrier, C.V., J.H. Baron, D.A. Dreiling, H.D. Janowitz:
Relationship between maximum bicarbonate and maximum acid outputs in the dog.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 124, 312-314, 1967.
- Rasmussen, H.: Cell communication, calcium ion, and cyclic adenosine monophosphate.
Science 170, 404-412 (1970).
- Rick, W.: in: Methoden der enzymatischen Analyse.
Herausg.: H.U. Bergmeyer, Verlag Chemie, Weinheim 1962.
- Rudick, J., D. Dreiling: A thomas cannula adaptor for the collection of pancreatic secretion.
Surgery 63, 4, 683-685 (1968).
- Schmidt, H., R.D. Hesch, M. Hüfner, K. Paschen, W. Creutzfeldt: Hemmung der exokrinen Pankreasfunktion des Menschen durch Calcitonin.
Dtsch.Med.Wschr. 45, 1773-1775, 1971.
- Schramm, M.: Recent work on the secretory process in the rat parotid gland and his relevance to the function of the pancreas, in: European Pancreatic Club, Vth Symposium, Abstracts, p.50, Brüssel 1971

- Schwert, G., Y. Tagenaka: A spectrophotometric determination of trypsin and chymotrypsin.
Biochim. Biophys. Acta 16, 570-575 (1955).
- Seifert, G.: Die calziphylaktische Pankreatitis.
Virchow Arch. Path. Anat. 338, 319-331 (1965).
- Sipos, T., J. Merkel: An effect of calcium ions on the activity, heat stability and structure of Trypsin.
Biochemist. 9, 2766-2775 (1970).
- Steffen, C., H. Goebell, G. Baltzer, H.K. Dürr: Untersuchungen zum Hemmeffekt von Glukagon auf die Pankreassekretion des Menschen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78, 1423-1425, 1972.
- Stein, E.A., Hsin, J., E.H. Fischer: α -Amylases as metallo-coenzymes. I. preparation of apsoamylase by chelation and elektrodialysis.
Bioch. 3 (1), 56-61 (1964).
- Sutherland, E.W., I. Øye, R.W. Butcher: The action of epinephrine and the role of the adenyle cyclase system in hormone action.
Recent Progr. Horm. Res. 21, 623-646, 1965.
- Thomas, J.E.: Symposion: Exocrine pancreatic function; methods of collecting pancreatic juice.
Gastroenterology 36, 362-367 (1959).
- Thomas, J.E., J.O. Crider: A quantitative study of acid in the intestine as a stimulus for the pancreas.
Amer. J. Physiol. 131, 349-356 (1940).
- Wallach, D., M. Schramm: Calcium and the exportable protein in rat parotid gland. Parallel subcellular distribution and concomitant secretion.
Eur. J. Biochem. 21, 433-437, 1971.
- Walsh, E.L., A.C. Ivy: Calcium excretion by the alimentary tract.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 25, 839-840, 1928.
- Worning, H., S. Müllertz: pH and pancreatic enzymes in the human duodenum during digestion of a standard meal.
Scand. J. Gastroent. 1, 268-283, 1966.
- Zimmermann, M.J., D.A. Dreiling, R. Rosenberg, H.D. Janowitz: Secretion of calcium by the canine pancreas.
Gastroenterology 52, 865-870, 1967.
- Zimmermann, M.J., E.W. Moore, D.A. Dreiling, H.D. Janowitz: Pancreatic juice ionized and total calcium in dogs in response to secretin, pancreozymin and calcium infusions.
J. Clin. Invest. 50, 103a, 1971.

7. Zusammenfassung

Calcium wird vom Pankreas im Gegensatz zu Natrium und Kalium in Unterschiedlichen Konzentrationen sezerniert. Diese Tatsache ist aus der Literatur bekannt. Bisherige Untersucher vermuteten einen Zusammenhang mit der Enzymsekretion. Durch Untersuchung des reinen Pankreassaftes des Hundes konnte gezeigt werden, daß die Calciumkonzentration nach Pankreozymingabe steigt. Die statistische Analyse ergab eine hochsignifikante Korrelation zwischen Calcium und Protein unter Pankreozyminstimulation, während unter alleiniger Sekretingabe eine Korrelation nicht zu sichern war. Aus diesen Ergebnissen wird das Vorliegen von zwei getrennten Proteinfraktionen im Duodenalsaft postuliert.

Untersuchungen des Duodenalaspirates des Menschen sollten klären, ob ein Zusammenhang zwischen der hypocalämischen Wirkung des Glukagon und der hemmenden Wirkung dieses Hormons auf das exokrine Pankreas besteht. Glukagon führte in der verwendeten Dosierung zu einer signifikanten Erniedrigung der Enzymkonzentration und -ausscheidung wie auch der Calcium- und Magnesiumkonzentration und -ausscheidung. Eine signifikante Wirkung auf die Flüssigkeits- und Bikarbonatsekretion wurde nicht festgestellt. Eine Beziehung der Hemmwirkung zu den Serumspiegeln von Calcium und Magnesium konnte nicht gesichert werden.

Die Ergebnisse werden diskutiert und zu den bisher bekannten Befunden in Beziehung gesetzt.

Unerklärt bleibt der Befund, daß nach einer Hemmung mit Glukagon eine Einzelinjektion von Pankreozymin eine Zunahme der Magnesiumkonzentration im Duodenalaspirat verursacht.

8. Lebenslauf

Am 2. April 1945 wurde ich in Marburg als Sohn des Arztes Dr. Karl-Heinz Steffen und seiner Ehefrau Rosel, geb. Hamann, geboren. Ich wuchs in Marburg auf und besuchte dort die Volksschule (Otto-Ubbelohde-Schule) und die Oberschule (neusprachlicher Zweig des Landschulheims Steinmühle). 1964 legte ich das Abitur ab und begann das Medizinstudium in Marburg, wo ich auch 1966 das Physikum bestand. Im Wintersemester 1966/67 studierte ich an der Universität Paris, um im Sommersemester 1967 nach Marburg zurückzukehren. 1968 famulierte ich drei Monate im Boston City Hospital in Boston, Mass. Nach dem Staatsexamen, das ich 1970 bestand, leistete ich meine Medizinischassistentenzeit an der Medizinischen und Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg ab.

Seit dem 1.4.1972 bin ich wissenschaftlicher Bediensteter am Pharmakologischen Institut in Marburg.

Am 25.9.1970 heiratete ich meine Studienkollegin Katrin Fromm. Unser Sohn Jan Oliver wurde am 13.3.1973 geboren.

Meine akademischen Lehrer waren in Marburg:

Dimroth, Dölle, Hamann, Hensel, Hort, Jakob, Jakobson, Karlson, Korb, Löhr, Mann, Martini, Matthes, Petry, Rodeck, Rohen, Schmid, Seidel, Schwaiger, Siegert, Straub, Streicher, Strohmeyer, Walcher

in Paris:

Uérot und Monsaingeon

Herrn Prof. Goebell möchte ich dafür danken, daß er mich in die wissenschaftliche Methodik eingeführt und die vorliegende Arbeit mit grosser Geduld betreut hat. Prof. Bode, Frau Dr. Bode, Prof. Schaumlöffel und Prof. Baltzer waren immer zu Kritik und Diskussionen bereit. Durch die Mitarbeit der Chirurgen Prof. Hupe, Prof. Maroske und Dr. Fischer wurden die Tierexperimente ermöglicht, wie auch ohne die Hilfe der Operationsschwestern und Tierpfleger der Chirurgischen Klinik die Versuche nicht hätten durchgeführt werden können.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen der Medizinischen Klinik gilt mein besonderer Dank. Prof. Dölle und der Direktor der Klinik, Prof. Martini, machten mir eine längere Tätigkeit im Labor möglich, Prof. Schmid gab mir die Erlaubnis zur Fertigstellung der Arbeit während der Tätigkeit in seinem Institut.

Ihnen allen gilt mein herzlicher Dank.

